

# PROTOPLASMA

UNTER BESONDERER MITWIRKUNG VON

**ROBERT CHAMBERS** UND **WILLIAM SEIFRIZ**  
NEW YORK PHILADELPHIA

HERAUSGEGEBEN VON

**JOSEF SPEK** UND **FRIEDL WEBER**  
ROSTOCK GRAZ

BAND XL, HEFT 3—4 (SCHLUSSHEFT)  
MIT 80 TEXTABBILDUNGEN  
ABGESCHLOSSEN AM 9. OKTOBER 1951



**WIEN**  
**SPRINGER-VERLAG**  
1951

Protoplasma

Die Zeitschrift

## Protoplasma

erscheint zwanglos in einzeln berechneten Heften wechselnden Umfanges, die zu Bänden von 600 bis 640 Seiten vereinigt werden.

Die Zeitschrift veröffentlicht Originalarbeiten, kurze Mitteilungen, Sammelreferate und kritische Referate aus allen Teilen der Protoplasmaforschung.

Manuskripte sowie alle auf die Redaktion bezüglichen Anfragen sind an

Prof. Dr. Fr. Weber, Pflanzenphysiologisches Institut,  
Graz, Schubertstraße 51, Österreich

oder an

Prof. Dr. J. Spek, Zoologisches Institut,  
(3a) Rostock, Universitätsplatz, Deutschland, Russ. Zone

zu senden; alle geschäftlichen Mitteilungen an den

Springer-Verlag in Wien I, Mölkerbastei 5.

Die Manuskripte sollen mit der Maschine geschrieben sein. Den Abhandlungen ist eine Zusammenfassung beizufügen, die Literatur ist nicht in Form von Fußnoten, sondern am Ende der Arbeit in Listenform anzuführen.

Die Manuskripte sind vollständig druckreif und in fehlerfreier Sprache einzusenden, so daß bei der Korrektur nur Satzfehler verbessert zu werden brauchen. Überschreiten die Autorkorrekturen 10% der Satzkosten, hat der Autor das Mehr zu tragen.

Die Vorlagen für die Abbildungen müssen vollkommen nachbildungsfähig abgeliefert werden. Kosten für etwa nötige Umzeichnungen werden dem Verfasser in Rechnung gestellt. Die Abbildungen sind auf das unbedingt notwendige Maß zu beschränken. Für die Reproduktion besonders reichen Illustrationsmaterials ist ein Unkostenbeitrag zu leisten.

Bedingung der Aufnahme von Arbeiten ist: möglichst kurze Fassung des Textes. Die Beiträge sollen den Umfang von 1½ Druckbogen (24 Seiten) nicht überschreiten.

Die Aufnahme von Artikeln, welche bereits an anderer Stelle in wörtlich oder auch nur inhaltlich gleicher Fassung publiziert worden sind, wird abgelehnt. „Vorläufige Mitteilungen“ und Auseinandersetzungen polemischen Inhalts werden nicht angenommen. Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Jänner desjenigen Jahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Der Verfasser verpflichtet sich also, innerhalb dieser Frist seinen im Protoplasma abgedruckten Beitrag nicht anderweitig zu veröffentlichen.

Die Abhandlungen, kurzen Mitteilungen, Sammelreferate und Referate können in den Sprachen der internationalen biologischen Kongresse verfaßt sein.

Die Verfasser erhalten 100 Sonderdrucke ihrer Beiträge kostenlos und können weitere (bis zu 200) gegen angemessene Berechnung beziehen. Unkostenersatz wird nur für Sammelreferate geleistet.

Springer-Verlag, Wien I, Mölkerbastei 5

Fernsprecher: U 26-5-60 Serie — Telegrammadresse: Springerbuch Wien

## XL. Band

## Inhaltsverzeichnis

## 3.—4. Heft

### Abhandlungen

Seite

Wiesner, Gertraud. Untersuchungen über Vitalfärbung von <i>Allium</i> -Zellen mit basischen Helfeldfarbstoffen.....	405
Höfler, Karl. Plasmolyse mit Natriumkarbonat. (Zur Frage des Plasmalemmas bei Süßwasseralgen und bei Gewebszellen von Landblütenpflanzen.).....	426
Kropfisch, Maria. Spaltöffnungszahl und Heteroauxin.....	461
Url, Walter. Permeabilitätsverteilung in den Zellen des Stengels von <i>Taraxacum officinale</i> und anderer krautiger Pflanzen.....	475
Pfeiffer, Hans H. Eine neue Mikromethode zur Bestimmung der Lichtbrechung von Protoplastatropfen.....	502
Schmidt, Heinz-Herbert. Studien zur experimentellen Pathologie der Chloroplasten. (II. Untersuchungen über die Streifen- und Näpfchenbildung der Chloroplasten.).....	507
Härtel, Otto. Die Stachelkugeln von <i>Nitella</i> .....	526
Troll, Wilhelm. Die protoplasmatische Organisation. (Dem Gedächtnis Ernst von Brückes.).....	541

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite







# PROTOPLASMA

UNTER BESONDERER MITWIRKUNG VON

**ROBERT CHAMBERS** UND **WILLIAM SEIFRIZ**

NEW YORK

PHILADELPHIA

HERAUSGEGEBEN VON

**JOSEF SPEK** UND **FRIEDL WEBER**

ROSTOCK

GRAZ

## XL. BAND

MIT 249 TEXTABBILDUNGEN



**WIEN**

**SPRINGER-VERLAG**

1951

PROTODIN

# Inhalt

## I. Abhandlungen

Seite

Abele, K. Über die Volumenabnahme des Zellkernes in der Plasmolyse und über das Zustandekommen der Kernplasmarelation . . . . .	324
Bejdl, W. Der Einfluß von Ultraschallwellen auf die Entwicklung von Froscheiern und auf die Zellteilung der Eier des Pferdespulwurms mit besonderer Berücksichtigung der Grenzflächenspannungen (II. Teil) . . . . .	54
Cholnoky, B. J. Über farbstoffführende <i>Nemesia strumosa</i> -Blumenblätter . . . . .	152
Drawert, H. Beiträge zur Vitalfärbung pflanzlicher Zellen . . . . .	85
Härtel, O. Ionenwirkungen auf die Kutikulartranspiration von Blättern . . . . .	107
— — Gerbstoffe als Ursache „voller“ Zellsäfte . . . . .	338
— — Die Stachelkugeln von <i>Nitella</i> . . . . .	526
Höffler, K. Plasmolyse mit Natriumkarbonat . . . . .	426
Höffler, K., und H. Schindler. Vitalfärbung von Algenzellen mit Toluidinblaulösungen gestufter Wasserstoffionenkonzentration . . . . .	137
Keller, R., and S. S. Wanderman. Experiments with Distant Effects of Protoplasm . . . . .	614
Kenda, G., I. Thaler und F. Weber. Kern-Kristalloide in Stomata-Zellen? . . . . .	624
Kropfisch, M. Apfelgas-Wirkung auf Stomatazahl . . . . .	256
— — UV-Bestrahlung und Stomatazahl . . . . .	266
— — Spaltöffnungszahl und Heteroauxin . . . . .	461
Kuhl, W. Mikrodynamische Untersuchungen an <i>Actinosphaerium eichhorni</i> Ehrbg. . . . .	555
Lipp, W. Versuch einer physiko-chemischen Analyse der Silberimprägnationsmethode nach Bielschowsky-Gros . . . . .	275
Mückschitz, G. Zur zellphysiologischen Analyse der Blütenbewegungen . . . . .	348
Pfeiffer H. H. Untersuchungen an Lipoidtropfen in Explantaten in vitro . . . . .	48
— — Eine neue Mikromethode zur Bestimmung der Lichtbrechung von Protoplasmatropfen . . . . .	502
Roclofsen, P. A. and A. L. Houwink. Cell Wall Structure of Staminal Hairs of <i>Tradescantia virginica</i> and its Relation with Growth. . . . .	1
Schmidt, H. H. Studien zur experimentellen Pathologie der Chloroplasten I. . . . .	209
— — Studien zur experimentellen Pathologie der Chloroplasten II. . . . .	507
Selfriz, W. A Molecular Interpretation of Toxicity . . . . .	313
Spek, J. Über das optische Verhalten von Safraninen und Aposafraninen in den verschiedenen Komponenten des Protoplasmas. . . . .	239
Stadelmann, E. Eine verbesserte Durchströmungskammer . . . . .	617
Troll, W. Die protoplasmatische Organisation . . . . .	541
Url, W. Permeabilitätsverteilung in den Zellen des Stengels von <i>Taraxacum officinale</i> und anderer krautiger Pflanzen . . . . .	475
Weber, F. und G. Kenda. Notizen über Nymphaeaceen-Stomata . . . . .	158
Wiesner, G. Untersuchungen über Vitalfärbung von <i>Allium</i> -Zellen mit basischen Hellfeldfarbstoffen . . . . .	405

Wittmann, H. Untersuchungen zur Dynamik einiger Lebensvorgänge von <i>Amoeba Sphaeronucleolus</i> (Greeff) bei natürlichem „Zeitmoment“ und unter Zeitraffung (II. Teil) . . . . .	23
Zeiger, K., H. Harders und W. Müller. Der Strugger-Effekt an der Nervenzelle	76

## II. Sammelreferate

Treiber, E. Der übermolekulare Aufbau der Cellulose (I. Teil) . . . . .	166
— — Der übermolekulare Aufbau der Cellulose (II. Teil) . . . . .	367

## III. Kurze Mitteilungen

Bancher, E. Mikrurgische Studien an <i>Delphinium</i> -Anthozyanophoren. . . . .	194
Brat, L., G. Kenda und F. Weber. Rhabdoide fehlen den Schließzellen von <i>Drosera</i>	633
Drawert, H. und C. Thielke. Protoplasmatische Studien an <i>Erineum nervisequum</i> Kunze auf <i>Fagus silvatica</i> L. . . . .	200
Hütter-Kanert, M. Über die Tüpfel von <i>Ceramium</i> . . . . .	397
Thielke, C. Sekundäre Membranverwachsungen im Bereich der Spaltöffnungen am Blütenstengel von <i>Narcissus poeticus</i> L. . . . .	639
Toth, A. Mikrurgische und mikrochemische Untersuchung der festen Anthozyan- körper im Blütenblatt von <i>Pelargonium zonale</i> . . . . .	187
Weber, F. Viruskörper fehlen den Stomazellen . . . . .	635

## IV. Referate

Allen and Price. The relation between respiration and protoplasmic flow in the slime mold (Härtel) . . . . .	205
Allsopp and Fell. The effects of fluoro-acetate on beating embryo chick heart in tissue culture (Pfeiffer). . . . .	403
Bahr. The reconstitution of collagen fibrils as revealed by electron microscopy (Pfeiffer) . . . . .	403
Balazs and Holmgren. The basic dye-uptake and the presence of a growth-inhibiting substance in the healing tissue of skin wounds (Pfeiffer). . . . .	403
Bogen. Kritische Untersuchungen über Permeabilitätsreihen (Collander) . . . . .	205
Brondsted and Carlsen. A cortical cytoskeleton in expanded epithelium cells of sponge gemmules (Pfeiffer) . . . . .	645
Bullough. Mitotic activity in the tissues of dead mice, and in tissues kept in physiological salt solutions (Pfeiffer) . . . . .	403
Corrnan. Ryanodine and contractile phenomena in the mitotic spindle (Pfeiffer) . . . . .	645
Criek. The physical properties of cytoplasm I. and II. (Pfeiffer) . . . . .	206
Fernández-Morán. Sheath and axon structures in the internode portion of Verte- brate myelinated nerve fibres (Pfeiffer) . . . . .	403
Frey-Wyssling und Mühlethaler. Zellteilung im Elektronenmikroskop (Härtel) . . . . .	206
Gavaudan et Breblon. L'échelle des inhibitions fonctionnelles dans la cellule végé- tale (Pfeiffer) . . . . .	645
Grossfeld. Cell permeability to electrolytes in tissue culture (Pfeiffer) . . . . .	645
Guttenberg. Lehrbuch der allgemeinen Botanik (Weber) . . . . .	645
Harman. Studies on Mitochondria II. The structure of mitochondria in relation to enzymatic activity (Pfeiffer) . . . . .	404
Hartmann. Electron microscopy of myelin sheath in sections of spinal cord (Pfeiffer)	647



<b>Kihlman.</b> 8-Ethoxycaffeine, an ideal inducer of structural chromosome changes in the root tips of <i>Allium cepa</i> (Pfeiffer) . . . . .	404
<b>Küster.</b> Die Pflanzenzelle (Weber) . . . . .	647
<b>Lamb.</b> The isolation of threads from interphase nuclei (Pfeiffer) . . . . .	647
<b>Lepke.</b> Über Kuppenfärbung, Vererzungs- und Verseifungsbilder bei <i>Helodea</i> (Härtel) . . . . .	207
<b>Leyon.</b> Some physico-chemical properties of spontaneous mouse encephalomyelitis virus, strain FA. (Pfeiffer) . . . . .	647
<b>Lindahl, Swedmark and Lundin.</b> Some new observations on the animalization of the unfertilized sea urchin egg. (Pfeiffer) . . . . .	648
<b>Lindberg.</b> On surface reactions in the sea urchin egg. (Pfeiffer) . . . . .	207
<b>Lindgren.</b> The relation of metaphosphate formation to cell division in yeast (Pfeiffer) . . . . .	648
<b>Lumsden and Pomerat.</b> Normal oligodendrocytes in tissue culture. A preliminary report on the pulsatile glial cells in tissue cultures from the corpus callosum of the normal adult rat brain (Pfeiffer) . . . . .	648
<b>Maly.</b> Cytomorphologische Studien an strahleninduzierten, konstant abweichenden Plastidenformen bei Farnprothallien (Biehl) . . . . .	648
<b>Marshak.</b> Chromosome structure in <i>Escherichia coli</i> (Pfeiffer) . . . . .	649
<b>Mazia and Hirshfeld.</b> Nuclear-cytoplasm relationships in the action of ultraviolet radiation on <i>Amoeba proteus</i> (Pfeiffer) . . . . .	649
<b>Moore.</b> Action of trypsin on the eggs of <i>Dendroaster excentricus</i> (Pfeiffer) . . . . .	649
<b>Osterhout.</b> Distant effects of toxic agents (Härtel) . . . . .	404
<b>Pfeiffer.</b> Neue Versuche zur Leptonik intermitotischer Zellkerne (Autorreferat) . . . . .	650
<b>Pirson und Seidel.</b> Zell- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an der Wurzel von <i>Lemna minor</i> L. unter besonderer Berücksichtigung von Kalium- und Kalziummangel (Härtel) . . . . .	207
<b>Ris and Mirsky.</b> Isolated chromosomes (Pfeiffer) . . . . .	650
<b>Rozsa, Szent-Györgyi and Wyckoff.</b> The fine structure of myofibrils (Pfeiffer) . . . . .	650
<b>Runnström and Kriszat.</b> Action of periodate on the surface reactions attending the activation of the egg of the sea urchin, <i>Psammechinus miliaris</i> (Pfeiffer) . . . . .	650
— — On the effect of adenosine triphosphoric acid and of Ca on the cytoplasm of the egg of the sea urchin, <i>Psammechinus miliaris</i> (Pfeiffer) . . . . .	650
<b>Schmidt.</b> Beiträge zum Gold- und Kupferdichroismus von Kollagen und Chitin (Pfeiffer) . . . . .	651
<b>Snellman and Celotte.</b> An investigation of the physical chemistry of the contractile proteins (Pfeiffer) . . . . .	651
<b>Sylvén.</b> The cytoplasm of living tissue mast cells in visual phasecontrast (Pfeiffer) . . . . .	651
<b>Troll.</b> Das Virusproblem in ontologischer Sicht (Weber) . . . . .	651
<b>Vasseur.</b> Demonstration of a jelly-splitting enzyme at the surface of the sea-urchin spermatozoon (Pfeiffer) . . . . .	652
<b>Virgin.</b> The effect of light on the protoplasmic viscosity (Weber) . . . . .	652
<b>Walter.</b> Einführung in die Phytologie (Härtel) . . . . .	208

6

1

1

# Untersuchungen über Vitalfärbung von *Allium*-Zellen mit basischen Hellfeldfarbstoffen

Von

**Gertraud Wiesner**

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien)

(Eingelangt am 4. Juli 1950)

Inhaltsverzeichnis	Seite
Einleitung . . . . .	405
Methodik . . . . .	406
I. Vitalfärbung voller und leerer Zellen . . . . .	407
1. Neutralrot . . . . .	407
2. Toluidinblau . . . . .	408
3. Brillantcresylblau . . . . .	411
4. Nilblau Chlorhydrat . . . . .	414
5. Nilblau Sulfat . . . . .	415
6. Capriblau . . . . .	417
7. Neutralviolett . . . . .	419
8. Thionin pur. . . . .	419
9. Toluylenblau . . . . .	419
II. Anfärbungen des nekrotischen Plasmas . . . . .	420
Zusammenfassung . . . . .	423
Literatur . . . . .	424

## Einleitung

Die Untersuchung mittels Vitalfarbstoffen ist heute gleich wichtig und bedeutend als reines Forschungsgebiet sowie auch als experimentelle Methode der Zellphysiologie. Beobachtungen über vitale Farbstoffaufnahme haben vor anderen Methoden den Vorzug, daß dabei die verschiedensten Faktoren behandelt werden. Es ist deshalb kein Wunder, daß gerade von Untersuchungen über die Aufnahme und Speicherung in die lebende Zelle in neuerer Zeit eine Reihe vordem nicht beachteter Gesichtspunkte für die Erklärung der bei der Stoffaufnahme herrschenden Gesetzmäßigkeiten gewonnen werden konnte. Es würde hier zu weit führen, wenn ich auf sämtliche einschlägige Arbeiten eingehen wollte. So seien nur einige der wichtigsten grundlegenden Arbeiten und Begriffe erwähnt, an die sich auch meine Versuche anschließen (Ruhland 1912, Irwin 1923, Küster 1918, 1926, 1933, Czaja 1934, Strugger 1936, 1940, 1949). Drawert (1938, 1939, 1941, 1948, 1949) stellt in seinen Arbeiten eingehende Analysen der Speicherungsbedingungen für verschiedene Vitalfarbstoffe dar. Ihm (1940) verdanken wir genauere

Angaben über Farbstoffverteilung bei verschiedenen  $p_H$ -Werten auf Zellsaft, Plasma und Membran der Innen- und Außenepidermis von *Allium cepa*. Außerdem untersuchte Drawert die Löslichkeit der Farbstoffe in organischen Lösungsmitteln und die Dissoziationsverhältnisse derselben bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration.

In der vorliegenden Arbeit soll die Aufnahme und Speicherung einiger basischer Farbstoffe untersucht und vor allem ihr unterschiedliches Verhalten bei der Anfärbung sogenannter „voller“ d. h. speicherstoffführender und „leerer“, d. h. speicherstofffreier Zellsäfte an *Allium*-Zellen eingehend verfolgt werden.

Was die Termini volle und leere Zellsäfte betrifft, so hat Höfler (1948) beim Studium mit Akridinorange angefärbte Zellen die Beobachtung gemacht, daß in sogenannten leeren Zellen, die sich, wie schon Strugger (1940, 1949) fand, mit Akridinorange im UV-Licht zu roter Fluoreszenz anfärben, diese Anfärbung wahrscheinlich auf das Vorhandensein von Farbkationen zurückzuführen ist, während die vollen Zellsäfte eine grüne Fluoreszenz annehmen, die durch Löslichkeitsspeicherung und gleichzeitiger Bindung des Farbstoffes an zelleigene Stoffe geschieht.

Es ist uns seit längerem bekannt (Drawert 1939, 1940), daß die basischen Farbstoffe bei saurer Reaktion zum Großteil ionisiert sind, im alkalischen Bereiche in Form undissoziierter Moleküle erscheinen, wobei der Umschlagbereich von Farbstoff zu Farbstoff in der  $p_H$ -Skala verschieden liegen kann. Dies hat zur Folge, daß einerseits im sauren Anteil sich die Zellulosemembranen elektroadsorptiv mit dem Farbstoff tingieren lassen, daß sich aber im alkalischen Bereich das Zellinnere und im besonderen die Vakuolen anfärben. Auch die nun folgenden Farbstoffe haben wiederum Beweise für die Gültigkeit dieser Theorie der Vitalfärbung geliefert, wobei zur Anfärbung der Vakuole die lipoidlöslichen Moleküle befähigt sind, durch das lebende Plasma zu permeieren, während die Ionen lipoidunlöslich sind und ihnen der Durchtritt durch das Plasma nicht möglich ist.

Es erscheint daher als Hauptaufgabe dieser Arbeit, auch bei Hellfeldfärbung das vitalfärberische Verhalten voller und leerer Zellen zu unterscheiden. Höfler (1947, 1949b) hat im Anschluß an seine Untersuchungen mit Fluoreszenzfarbstoffen bloß Anfärbungen mit Neutralrot erwähnt, an welche ich meine eigenen Ergebnisse anschließen möchte.

Weiters hat Drawert die sogenannte Mosaikfärbung und Höfler die Buntfärbung an mit Fluoreszenzfarbstoffen angefärbten austreibenden Zwiebelhäutchen festgestellt. Man versteht darunter die bunte, vielfarbige Färbung der Vakuolen, wobei sich benachbarte Zellsäfte in verschiedener Weise anfärben.

### Methodik

Methodisch habe ich mich den bisher vorliegenden Versuchen angeschlossen. Ich bin von den von Strugger aufgestellten Lösungen abgestufter  $p_H$ -Werte ausgegangen. Die Farblösungen wurden nach der bekannten Weise mit Phosphatpuffern hergestellt. Bei der Herstellung der Farblösungen wird ein Volumteil des Puffergemisches mit einem Teil Farbstammlösung 1:1000 und acht Teilen dest.  $H_2O$  vermischt, die entsprechenden ungefärbten Puffer enthalten einen Teil

des gleichen Puffergemisches und neun Teile  $H_2O$ . (Der Puffer besteht aus  $KH_2PO_4$  und  $Na_3PO_4$ ; im Text wird jeweils neben dem entsprechenden  $p_H$ -Wert dieses Mischungsverhältnis angegeben.)

$p_H$	n/10 HCl	$KH_2PO_4$	$Na_3PO_4$	$H_2O$	Farblösung 1 : 1000
2,04	9,5	0,5	—	80	10
3,1	0,5	9,5	—	80	10
4,8	—	10,0	—	80	10
6,0	—	9,5	0,5	80	10
7,1	—	7,0	3,0	80	10
8,0	—	5,0	5,0	80	10
8,75	—	4,5	5,5	80	10
10,1	—	4,0	6,0	80	10
11,0	—	2,0	8,0	80	10
12,0	—	1,0	9,0	80	10

Nur im Gebiete des Umschlagbereiches wurden die Pufferlösungen zur exakteren Bestimmung mit sekundärem Natriumphosphat (vgl. Höfler 1948, S. 589) hergestellt.

$p_H$	$KH_2PO_4$	$Na_2HPO_4$	$H_2O$	Farblösung 1 : 1000
5,92	9,0	1,0	80	10
6,28	8,0	2,0	80	10
6,48	7,0	3,0	80	10
6,68	6,0	4,0	80	10
6,85	5,0	5,0	80	10

Die Objekte wurden je nach der Eigenart des Farbstoffes im allgemeinen 10 bis 20 Min. in der Farblösung belassen; sodann wurde das Präparat im ungefärbten Phosphatpuffer vom gleichen  $p_H$ -Wert ausgewaschen.

Um eine präzise Bestimmung der entstandenen Farbtöne der gefärbten Objekte festzulegen, wurden diese mit Hilfe der kleinen Farbmeßtafeln nach Wilhelm Ostwald gemacht, wobei nur die Farbtonnummer, nicht aber die Farbintensität angegeben wird.

Als Objekt wählte ich die Epidermen der Schuppen von *Allium cepa*, die immer und immer wieder, zunächst von Küster angeregt, von zahlreichen Zellphysiologen mit gutem Erfolg verwendet wurden. Es wurden Schnitte der Zwiebelinnen- sowie Außenepidermis zur Beobachtung herangezogen. Neben ruhenden Zwiebeln wurden auch austreibende zum Vergleich untersucht, an denen sich, wie bereits in der Einleitung erwähnt, die Bunt- bzw. Mosaikfärbung gut beobachten läßt.

## I. Vitalfärbung voller und leerer Zellen

### 1. Neutralrot

Als einleitende Versuchsreihe möchte ich zunächst die mit dem Farbstoff Neutralrot durchgeführten Beobachtungen kurz erwähnen. Neutralrot wurde und wird viel verwendet und vermittelt als Vitalfarbstoff wesentliche Beiträge zu neuen Erkenntnissen.

Wie erwähnt, verwende ich zur Untersuchung die Innen- sowie Außenepidermis der Zwiebelschuppen von *Allium cepa*. Seit Jahren schon ist das verschiedene Verhalten dieser beiden Epidermiszellen bekannt (Wulff 1934, Strugger 1935, 1936, 1949), aber erst in letzter Zeit versuchte Höfler (1947) für dieses verschiedene Verhalten dieser beiden Epidermen neue Erklärungen und Termini zu finden. Nach Höfler (1948) sind die Zellen der Innenepidermis ruhender Zwiebel als leere, d. h. speicherstofffreie Zellen und die der Außenepidermis als speicherstoffführende, volle Zellen zu bezeichnen. Die prinzipiell wichtige Beobachtung ist, daß die Tinktion der ersteren auf eine Kationenfärbung bzw. -speicherung zurückgeführt werden kann und erst oberhalb einer scharf ausgeprägten  $p_H$ -Schwelle auftritt, während die Färbung der speicherstoffführenden Zellen auf chemischer Bindung beruht und weniger  $p_H$ -abhängig ist.

Bei Anfärbungen mit Neutralrot speichern beide Epidermen den Farbstoff in der Vakuole, jedoch mit verschiedenen Farbtönen; die Vakuolen der Innenepidermis sind etwa als erdbeerrot, die der Außenepidermis mehr als violettrot zu bezeichnen. Auch hinsichtlich des Zustandekommens einer Vakuolenkontraktion besteht ein Unterschied. Während in der Innenepidermis die Neutralrotfärbung zur Hervorrufung einer Allgemeinkontraktion genügt (Strugger 1936), muß bei der Außenepidermis außer der Neutralrotfärbung noch ein Wundreiz hinzukommen. Das Plasma und der Zellkern sind völlig ungefärbt, nur beschädigte und abgestorbene Zellen am Schnitttrand weisen prämortale Plasma- und Kernfärbung auf.

Im sauren  $p_H$ -Bereich zwischen  $p_H$  5,0 und  $p_H$  3,0 treten nur Membranfärbungen an lebenden Zellen auf.

Nähere Einzelheiten über diesen Farbstoff zu bringen, will ich in Anbetracht der vorliegenden Literatur unterlassen (Strugger 1936, Drawert 1938).

## 2. Toluidinblau

Toluidinblau gehört zu den basischen Thiazinfarbstoffen und ist einer von den meist verwendeten Farbstoffen aus dieser Gruppe (Czaja 1934, 1937, Drawert 1940). Die Bedeutung des Farbstoffes auf botanischem Gebiet liegt in seinen metachromatischen Eigenschaften, worunter man die verschiedenartige Anfärbung verschiedener Zellbestandteile mit einem einheitlichen Farbstoff versteht.

Das Hauptproblem, welches dieser Arbeit zugrunde liegt, nämlich die verschiedene Anfärbung voller und leerer Zellen, findet auch bei Toluidinblau seine Bestätigung. Der Farbstoff wird bei geeigneter Farbbadreaktion sowohl bei Zellen der Innen- als auch der Außenepidermis von den Vakuolen gespeichert. Der Umschlagbereich liegt für Toluidinblau besonders hoch, d. h. weiter im alkalischen Bereich als bei den anderen Farbstoffen. Darin mag wohl der Grund zu suchen sein, daß lange Zeit keine Vakuolenanfärbungen bei diesem Farbstoff festgestellt werden konnten. Ich habe beobachten können, daß sich bei solcher Vakuolenfärbung im stark alkalischen Farbbad die Innen- und Außenepidermis durch deutlich verschiedene Farbtöne unterscheidet. Gleiches konnte bei Versuchen der Innenepidermis austreibender Zwiebel, welche die sogenannte Buntfärbung zeig-



ten, bestätigt werden. Der Farbton der leeren Zellsäfte ist blauviolett und entspricht etwa der Farbtonnummer 13 nach Ostwalds Farbtontafel, die Färbung der vollen Zellsäfte ist blaugrün und kann etwa mit der Nummer 19 gleichgesetzt werden.

Aber nicht allein die Zellsäfte werden von diesem Farbstoff angefärbt, auch Plasmateile zeigen intensive Blaufärbung, wie in dem II. Abschnitt dieser Arbeit über Plasmafärbungen gezeigt werden wird.

Die ersten Versuche mit den Innenepidermen ruhender Zwiebel wurden etwa bei einem  $p_H > 12,0$  ( $1 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 9 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) gemacht, wo sich besonders schöne Vitalfärbungen beobachten lassen. Nach längerer Anfärbungszeit erscheinen die Zellen blauviolett und zeigen mehr oder minder starke Allgemeinkontraktionen. Die Schnitttranzellen sind besonders intensiv gefärbt und zeigen in den gequollenen Plasmaecken violett angefärbte Kugeln verschiedener Größen. Diese Teilvakuolen, als solche sind diese Kugeln zu bezeichnen, erscheinen rotviolett, während die Hauptvakuole blauviolett gefärbt ist.

Die Membranen am Schnitttrand des Präparates sind rotviolett; dies beruht auf reiner Elektroadsorption, was sich durch eine vollkommene Entfärbung beim Durchsaugen von  $\text{CaCl}_2$  leicht feststellen läßt.

Auch eine Anfärbung um  $p_H > 11,0$  ( $2 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 8 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) bringt die gleichen Ergebnisse. Anfärbungen, Vak.-Ko. und die Farbtöne stimmen überein, wobei die Farbnuancen stets variieren.

Bei dem nächstfolgenden  $p_H$  10,1 ( $4 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 6 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) findet man schon andere Verhältnisse. Hier findet der Übergang von Vakuolen- zur Membranfärbung statt. Nach der gleichen Anfärbungszeit wie bei den vorhergehenden Versuchen und bei einem Schnitt der gleichen Zwiebelschuppe tritt nur teilweise Vakuolenfärbung ein; der Farbton ist der gleiche geblieben, hat jedoch an Intensität stark abgenommen. In einzelnen Zellpartien sieht man bereits violette Membranfärbungen, während die Zellsäfte farblos bleiben, aber schwach kontrahiert sind. Es muß dabei erwähnt werden, daß mitunter bei diesem  $p_H$ -Wert die Vakuolenfärbungen überhaupt ausbleiben und nur mehr gefärbte Membranen zu beobachten sind. Bei darunter liegenden  $p_H$ -Stufen kommen in der Innenepidermis überhaupt nur mehr Membranfärbungen vor.

Um sich über die Art der Vakuolenfärbung Klarheit zu verschaffen, wurden Versuche unternommen, wobei man verdünnte  $\text{NH}_3$ -Lösungen auf die gefärbten Zwiebelschnitte einwirken ließ. Zu diesem Zweck wurden gefärbte Präparate zunächst im ungefärbten Phosphatpuffer ausgewaschen und dann 1–2 Min. in eine  $n/100$   $\text{NH}_3$ -Lösung gebracht. Die Zellsäfte werden in dieser Zeit vollkommen entfärbt, d. h. der Ammoniak treibt das Toluidinblau aus der Vakuole in die Zellwände (Höfler 1948). Man nimmt daher an, daß es sich um eine Ionenfärbung handelt.

Die gleiche Versuchsreihe wurde auch an Zellen der Außenepidermis gemacht. Die Zellen haben blaugrüne Zellsäfte (Farbtonnummer 19), die Zellreihe, die unmittelbar an den Schnitttrand anschließt, besitzt beinahe grüne Vakuolen. Es tritt nur Einzelkontraktion auf. Die Membranen des Schnitttrandes sind gleich der Innenepidermis elektroadsorptiv angefärbt.

Es kommt noch dazu, daß bei längerem Liegenlassen des angefärbten Präparates im ungefärbten, entsprechenden Phosphatpuffer in den blaugrünen Außenepidermiszellen dunkle Entmischungskugeln auftreten, die allmählich größer werden.

Bei einem  $p_H$  um 10,1 ( $4KH_2PO_4 + 6Na_3PO_4$ ) zeigt die Außenepidermis noch starke Vakuolenfärbung, während hier bereits die Zellen der Innenepidermis farblos bleiben. Erst bei darunter liegenden Lösungsstufen unterbleibt auch in den Außenepidermen die Vakuolenfärbung zugunsten der gefärbten Zellwände.

Drawert findet (1940) die Anfärbungsschwelle der Außenepidermis zwischen  $p_H$  7,0–8,0 und die der Innenepidermis zwischen  $p_H$  9,0–10,0, also eine ähnliche, fast noch größere Differenz, als ich sie beobachten konnte.

Was die Anfärbung des Parenchyms betrifft, so zeigt dieses im extrem alkalischen  $p_H$ -Bereich bei etwa  $p_H > 12,0$  ( $1KH_2PO_4 + 9Na_3PO_4$ ) ganz die gleichen Anfärbungen wie die Innenepidermis. Die Vakuolen sind blauviolett gefärbt; jedoch konnte ich einen wesentlichen Unterschied im Verhalten der Kontraktionen feststellen. Die Parenchymzellen zeigten in meinen Versuchen niemals Kontraktionen. Auf  $NH_3$  reagieren die Parenchymzellen, wie schon nach dem Anfärbungsverhalten anzunehmen ist, ebenso wie die der Innenepidermis. Der Farbstoff läßt sich in kürzester Zeit von den Vakuolen in die Zellwände treiben. Der Vorgang ist ein reversibler.

Anders verhalten sich die Zellen der Außenepidermis; es erfolgt hier keine Entfärbung oder Umlagerung des Farbstoffes. Auch ein Farbtonunterschied kann nicht festgestellt werden.

Die bisher erwähnten Versuche brachten die Ergebnisse von Zwiebeln der Ruheperiode. Zu den gleichen Versuchen wurden auch austreibende Zwiebeln herangezogen. Mit Akridinorange gefärbt und im UV-Licht betrachtet, zeigen Präparate der gleichen Zwiebel teils rote, teils gelbe und grüne Zellsäfte, also die von Höfler beschriebene Buntfärbung. Ein Schnitt der Innenepidermis der gleichen Zwiebel wird in eine Farblösung bei  $p_H > 11,0$  ( $2KH_2PO_4 + 8Na_3PO_4$ ) gebracht. Das 15 Min. angefärbte Präparat zeigt die herrlichste, verschiedenartigste Vakuolenfärbung. Lange Zellreihen sind mit dem üblichen blauvioletten Farbton der Innenepidermiszellen gefärbt und zeigen starke Allgemeinkontraktionen. Dazwischen liegen aber Zellreihen, die intensive blaugrüne bis grüne Vakuolen zeigen, bei denen die Kontraktionen unterbleiben, bei mischfarbigen Zellen treten schwache Kontraktionen auf. Das Farbenbild ist ein prächtiges und läßt sich durchaus nicht mit zwei bis drei Farben festlegen, da sämtliche Übergänge und Farbnuancen vorhanden sind. Ein einfacher Ammoniak-Versuch bringt die Bestätigung, daß hier volle und leere Zellen nebeneinander liegen. Bei den blauvioletten Zellsäften findet die bekannte Umlagerung Vakuole-Membran statt, die übrigen Zellen aber werden durch den Ammoniak nicht beeinflusst.

Bei der Deutung des gegensätzlichen Verhaltens der Innen- und Außenepidermiszellen sei Höfler (1948) erwähnt, der annimmt, daß der Ammoniak die freien Farbstoffkationen der Innenepidermis rasch fängt, wäh-

rend der chemisch gebundene Farbstoff im Zellsaft der lebenden Außenepidermiszellen bei Alkalinisierung aushält und nur einer langsamen Umsetzung unterliegt.

#### Farbbestimmung nach Ostwald.

	Farbtonnummer
Blauvioletter Zellsaft (Ionenfärbung) . . . .	13
Blaugrüner Zellsaft, chemisch gebunden . . .	19
Membran . . . . .	12
Koaguliertes Plasma . . . . .	12
Gequollener Kern . . . . .	12
Parenchym . . . . .	13

#### Innenepidermis

$p_H$	Vakuole	Membran	gequ. Pl.	koag. Pl.	Kern
11,5	++	—	+	+	—
10,1	++	—	+	+	—
8,0	—	+	—	+	—

#### 3. Brillanteresyblau

Brillanteresyblau ist einer der besten und meist verwendeten Vitalfarbstoffe (vgl. Irwin 1922, 1927, Guilliermond-Atkinson 1941, Drawert 1940, Hofmeister 1940). Allgemein wäre über diesen Farbstoff zu sagen, daß im extrem sauren Gebiet, d. h. unterhalb  $p_H$  2,04, keine vitale Farbstoffaufnahme mehr beobachtet werden konnte. Doch reichen die Vakuolenfärbungen weit in den alkalischen Bereich hinein.

Der Farbstoff Brillanteresyblau ist als weitgehend unschädlich zu bezeichnen, denn selbst nach einem Aufenthalt der Epidermen von über 24 Stunden in der Farblösung 1:10.000 findet man in stark angefärbten Zellen noch ganz normale Plasmolyse.

Auch hier läßt sich nach oft wiederholten Versuchsreihen das gegensätzliche Verhalten der anatomisch homologen Zellen der beiden Epidermen von *Allium cepa* bestätigen. Man kann beobachten, daß Brillanteresyblau in den Zellen der Innenepidermis eine intensiv blaue (Farbtonnummer 14), in denen der Außenepidermis eine grüne Farbe (Farbtonnummer 16—18) hervorruft. Im Falle der Blaufärbung werden bloß Farbstoffionen im Zellsaft angereichert, im Falle der grünen Vakuolenfärbung geht der Farbstoff im Zellsaft eine chemische Bindung mit Stoffen ein, die in der Vakuole vorhanden sind.

Was die Zwiebelinnenepidermis betrifft, so zeigen alkalische Farbbäder bei etwa  $p_H > 12,0$  ( $1 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 9 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ),  $> 11,0$  ( $2 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 8 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) und 10,1 ( $4 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 6 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) annähernd die gleiche Wirkung. Nach einer Anfärbungsdauer von etwa 10 Min. nehmen die Zellen eine einheitliche, kornblumenblaue Vakuolenfärbung an. Auf diese äußerst gleichmäßige und einheitliche Anfärbung durch diesen Farbstoff sei besonders hingewiesen. Nach etwas stärkerer Anfärbung tritt allgemein Vak-

Ko. ein. Die verletzten Zellen des Wundrandes haben violette Membranen, welche sich durch  $\text{CaCl}_2$  vollkommen auswaschen lassen, d. h. es handelt sich wieder um Elektroadsorption. Das koagulierte Plasma und der gequollene Kern sind hellblau gefärbt. Erst bei einem  $p_{\text{H}}$  um 6,0 ( $9,5 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 0,5 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) fehlen zum Teil die Vakuolenfärbungen, obwohl noch deutlich Vak.-Ko. auftritt. Nur in Schnitttrandnähe treten noch mitunter schwach angefärbte Zellsäfte auf. Dafür werden die Membranen lebender Zellen bis zu einem  $p_{\text{H}}$  um 2,0 ( $9,5 \text{ HCl } 0,5 \text{ KH}_2\text{PO}_4$ ), wo der IEP der Zellulosemembran bereits unterschritten ist, violett angefärbt. Tote Zellbestandteile werden bis zu diesem  $p_{\text{H}}$ -Wert blau angefärbt.

Die Vakuolenanfärbungen der Außenepidermis reichen in der  $p_{\text{H}}$ -Reihe bis in den Bereich etwa um 5,5 herab. Auch hier findet intensive Zellsaftanfärbung statt, wobei ein deutlicher Farbtonunterschied zwischen den Epidermiszellen und denen des Parenchyms zu erkennen ist. Letztere zeigen Anfärbungen mit einem einheitlichen wasserblauen Farbton (Nr. 16), während die Epidermiszellen blaugrün (Nr. 16–18) gefärbt sind. Nur in der Gegend des Schnittrandes tritt starke Einzelkontraktion auf, so daß wir von einer Wundrandkontraktion sprechen können. Bemerkenswert ist, daß bei stärkerer Kontraktion, die zur Abschnürung von Teilvakuolen führt, auch eine Farbveränderung im Zellsaft auftritt. Während normale oder nur schwach kontrahierte Zellen der Außenepidermis blaugrün sind, erscheinen die Zellen mit stärkerer Kontraktion fast grasgrün. Dabei kann man beobachten, daß die einzelnen Teilvakuolen verschiedene Anfärbungen zeigen. Auch in der Außenepidermis treten elektroadsorptive Schnittrandfärbungen auf. Doch bleibt der Schnittrand oft auch farblos; das Ausbleiben der Membranfärbungen dürfte einfach auf die Speicherkonkurrenz lebender Zellinhalte zurückzuführen sein (Höfler 1948). Auch Entmischungskugeln sind in der Außenepidermis zu beobachten.

Um die anfänglich aufgestellte These der speicherstofffreien und speicherstoffführenden Zellen auf ihre Richtigkeit zu prüfen, habe ich die mit Brillantcresylblau gefärbten Schnitte von *Allium* mit verdünnten ( $n/100$ )  $\text{NH}_3$ -Lösungen behandelt. Die blauen Vakuolen der Innenepidermis werden entfärbt, während die grünen Zellen der Außenepidermis unverändert bleiben bzw. ihren Farbton etwas verändern; d. h. der Ammoniak verwandelt auch beim Brillantcresylblau die blauen Ionen in permeifähige Moleküle um, die in den Zellmembranen elektroadsorptiv mit blauer Farbe festgelegt werden, während in den Zellen der Außenepidermis der im Zellsaft chemisch gebundene Farbstoff durch den Eintritt der alkalischen Reaktion nicht zu freien, permeifähigen Molekülen rückverwandelt wird.

In den folgenden Versuchen soll der Einfluß von K-Salzen auf die Anfärbung mit Brillantcresylblau festgestellt werden. Wird in eine Mischung, bestehend aus 1 mol. KCl und 0,01% Brillantcresylblau ein *Allium*-Innenepidermisschnitt gebracht, so läßt sich feststellen, daß das Kalium in keiner Weise der Speicherung des Farbstoffes entgegenwirkt. Die Zellen zeigen gefärbte Vakuolen mit Konvexplasmolysen (vgl. Drawert 1938, Versuche mit Prune pure).

Bei der Anwendung einer 2 mol. KCl-Lösung kommt nach einer bestimm-

ten Anfärbungszeit folgendes Bild zustande: der Farbstoff wird ungehindert von den Zellen aufgenommen. Zunächst können kräftige Konvexpasmolyse beobachtet, erst allmählich Teilvakuolen und nach etwa 1 Stunde auch Kappenplasmolysen in einzelnen Zellen festgestellt werden.

Wird eine 5 mol. KCl-Lösung angewendet, so bleibt bei dem sehr raschen Wasserentzug das Plasma überall an den Wänden kleben und bedingt so eine ausgeprägte Krampfplasmolyse. Nachdem der Protoplast sich endgültig zusammengezogen hat, ist der zwischen ihm und den Membranen entstandene leere Raum von vielen blau gefärbten Hechtschen Fäden durchspannen.

Parallelversuche mit  $\text{CaCl}_2$  zeigen ähnliche Ergebnisse. Die Anfärbungen ändern sich nur wenig, die Farben werden satter, da das  $\text{CaCl}_2$  bei der richtigen Konzentration (0,5 mol.) stets zur Plasmolyse führt, wobei die Blaufärbung der Zusammenziehung der Protoplasten und der Konzentrationserhöhung entsprechend intensiver wird.

Bei Versuchen mit austreibenden Zwiebeln wurden zunächst die Innenepidermen mit Akridinorange angefärbt und im Fluoreszenzmikroskop gesehen. Im UV-Licht erscheinen die gefärbten Zellen teils rot und teils grün, und zwar sah ich, daß die anfangs grünen Zellkomplexe nur unmittelbar am Schnitttrand gelegen sind und daß sie sich anscheinend nach längerem Liegenlassen des Präparates im Phosphatpuffer vermehren. Auch bei einer Anfärbung der gleichen Zwiebelschuppe mit Brillantcresylblau zeigt sich bei der Hellfelduntersuchung ein entsprechendes Bild, daß bei schwach ausgetriebenen Zwiebelepidermen die Zellen in der Gegend des Wundrandes die Tendenz zur Veränderung der Zellsäfte zeigen. Während das ganze Innenfeld unseres Präparates normale blaue Zellsaftanfärbung mit Allgemeincontraktion aufweist, zeigen die Zellpartien des Schnittandes blaugrüne bis grasgrüne Zellsäfte. Die blaugrünen Zellen haben noch schwache Vak.-Ko. Bei Versuchen mit stärker ausgetriebenen Zwiebeln tritt die Buntfärbung viel allgemeiner auf.

Auch der Farbstoff Brillantcresylblau ist demnach geeignet, die beiden verschiedenen Speichermechanismen der vollen und leeren Zellen zu unterscheiden. Chemische Bindung einerseits und Ionenfärbung andererseits finden ihre Bestätigung durch die  $\text{NH}_3$ -Reaktion bzw. im Bild der Fluoreszenz. Bei speicherstofffreien Zellen führen die intensiven Anfärbungen zu starken Allgemeincontraktionen, während in den nicht minder intensiv gefärbten Zellsäften der Außenepidermis nur Einzelcontraktionen auftreten. In den Parenchymzellen unterbleibt wieder jede Vak.-Ko.

#### Farbbestimmung nach Ostwald

	Farbtonnummer
Kornblumenblauer Zellsaft (Ionenfärbung) . . .	14
Grüner Zellsaft, chemisch gebunden . . . . .	16—18
Membran . . . . .	12
Koaguliertes Plasma . . . . .	16
Gequollener Kern . . . . .	14
Parenchym . . . . .	16



## Innenepidermis

$p_H$	Vakuole	Membran	gequ. Pl.	koag. Pl.	Kern
10,1	++	—	+	+	—
8,0	++	—	+	+	—
6,0	—	+	—	+	—

## 4. Nilblau Chlorhydrat

Nilblau Chlorhydrat ist ein wenig haltbarer Farbstoff, der im alkalischen Bereich bereits nach kurzer Zeit ausfällt. Die Versuche müssen daher sofort nach Herstellung des Farbstoffgemisches gemacht werden, da außer der leichten Ausfällbarkeit dieses Farbstoffes bei Einwirkung des Luftsauerstoffes ein Farbtonumschlag der Lösung auftritt, welcher auch im Verhalten der Zellsaftanfärbungen festgestellt werden kann.

Die Verdünnung der Farblösung betrug diesmal 1:5000, da Nilblau Chlorhydrat langsam und nicht intensiv anfärbt, andererseits auch nicht sonderlich giftig ist.

Versuchsergebnisse der Innenepidermis bei  $p_H$  um 8,75 ( $4,5 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 5,5 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) zeigen nach etwa 15 Min. sehr schöne Vakuolenfärbungen. Der Farbstoff ist metachromatisch, die Zellen sind hellblau, mittelblau bis violett (Nr. 12—14) gefärbt; dazwischen zeigen sich zahlreiche Farbübergänge, so daß eine exakte Farbbestimmung außerordentlich schwierig anzugeben ist. Die verschieden angefärbten Zellen liegen willkürlich durcheinander; doch hat dieses farbenprächtige Bild mit einer Buntfärbung nichts zu tun, da die Zellen bei näherer Untersuchung einander vollkommen gleichwertig sind, denn mit einer  $n/100 \text{ NH}_3$ -Lösung lassen sich blaue sowie violette Zellen entfärben. Es handelt sich daher wieder um die sogenannten leeren Zellsäfte, deren Anfärbungen auf das Vorhandensein von Ionen zurückgeführt werden. Der Vorgang ist ein reversibler, d. h. der durch den Ammoniak in die Zellmembran verlagerte Farbstoff läßt sich nach Rückführung in den alten Phosphatpuffer wieder in die Vakuole verlagern. Die Zellen mit den eben beschriebenen gefärbten Zellsäften zeigen durchwegs starke Allgemeinkontraktionen. Die Membranen des Schnittrandes sind blau gefärbt, doch findet nach Behandlung mit  $\text{CaCl}_2$  keine vollkommene Entfärbung statt, sondern es bleibt ein rotvioletter Farbton zurück, so daß man annehmen muß, daß die Schnittrandfärbung nicht allein auf elektroadsorptiver Bindung beruht, sondern daß hier noch eine zusätzliche chemische Bindung vorhanden ist, die der Behandlung mit  $\text{CaCl}_2$  widersteht. Bei einem  $p_H$  um 7,1 ( $7 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 3 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) können Zellsaftfärbungen neben gefärbten Membranen beobachtet werden.

Mit Hilfe einer Feinversuchsreihe mit sekundärem Natriumphosphat wurde eine neue Bestimmung der Färbeschwelle unternommen. Bei  $p_H$  6,28 ( $8 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 2 \text{ Na}_2\text{HPO}_4$ ) ist der Zellsaft völlig ungefärbt, doch ist teilweise deutliche Vak.-Ko. eingetreten. Die Zellmembranen sind hellblau; intensive Plasmaströmung ist als Zeichen des vitalen Zustandes in den Zellen gut zu beobachten. Der nächstfolgende  $p_H$ -Wert 6,85 ( $5 \text{ KH}_2\text{HPO}_4 + 5 \text{ Na}_2\text{HPO}_4$ ) zeigt schon allgemein Zellsaftanfärbung und Vak.-Ko.



Bei Vakuolenfärbungen des alkalischen Bereiches lassen sich die Zellsäfte mit  $\text{NH}_3$  nach der üblichen Weise entfärben. Wiederum können wir die Anfärbung leerer Zellen als Ionenspeicherung bezeichnen.

Die Anfärbungen der Außenepidermis finden bei annähernd gleichen  $p_{\text{H}}$ -Werten statt, nur liegt der Umschlagbereich von Vakuolen- zur Membranfärbung erst bei etwa  $p_{\text{H}}$  5,5. Die Vakuolen sind grasgrün, gegen den Schnitttrand zu schlägt der Farbton mehr ins Gelbgrüne um (Nr. 21–22). Intensiv gefärbte Zellen zeigen Einzelkontraktionen; Entmischungskugeln fehlen bei diesem Farbstoff. Der Schnitttrand ist gleich der Innenepidermis gefärbt. Durch Zusatz von einer Ammoniaklösung werden die gefärbten Zellen nicht beeinflusst, es handelt sich um volle, speicherstoffführende Zellen.

Die Parenchymzellen sind hellblau, die verschiedenartigen Anfärbungen der Innenepidermis fehlen. Es finden keine Vak.-Ko. statt, wie ich es immer wieder bei Zellen des Parenchyms feststellen konnte. Entfärbungen mit  $\text{NH}_3$  können ohne weiteres durchgeführt werden.

Die Anfärbungen an ausgetriebenen Zwiebeln zeigen überaus mannigfaltige Bilder. Zu den ohnedies schon metachromatisch gefärbten leeren Zellsäften kommen noch grüne und gelbgrüne Vakuolen mit zahlreichen Übergangsformen dazu.

#### Farbestimmung nach Ostwald

	Farbtonnummer
Blauvioletter Zellsaft (Ionenfärbung) . . .	12–14
Gelbgrüner Zellsaft, chemisch gebunden . .	21–22
Membran . . . . .	14
Koaguliertes Plasma . . . . .	14–15
Gequollener Kern . . . . .	15
Parenchym . . . . .	15

#### Innenepidermis

$p_{\text{H}}$	Vakuole	Membran	gequ.Pl.	koag.Pl.	Kern
8,75	++	—	+	+	—
8,0	++	—	+	+	—
6,0	—	+	—	+	—

#### 5. Nilblau Sulfat

Dieser Farbstoff zeigt gewisse Ähnlichkeiten mit dem soeben beschriebenen Chlorhydrat. Der Farbstoff ist jedoch haltbarer, fällt nicht so rasch aus, doch ist er andererseits nicht unschädlich, und bereits Schaede 1923 berichtet von der Giftigkeit dieses Farbstoffes.

Im alkalischen Bereich bei etwa  $p_{\text{H}}$  10,1 ( $4\text{KH}_2\text{PO}_4 + 6\text{Na}_3\text{PO}_4$ ) zeigen die Zellen der Innenepidermis blaue bis blauviolette Vakuolen (Nr. 13 bis 14), mitunter sogar blaugrüne Anfärbungen. Die angefärbten Zellen zeigen durchwegs intensive Vak.-Ko. Der Schnitttrand ist violett und läßt sich durch  $\text{CaCl}_2$  nur teilweise entfärben, d. h. daß so wie beim Chlorhydrat neben der Elektroadsorption noch eine chemische Bindung vorhanden sein muß.

Die darauf folgenden  $p_H$ -Werte bis etwa  $p_H$  6,0 ( $9,5 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 0,5 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) unterscheiden sich nicht wesentlich. Nur sind die Anfärbungen nicht mehr so intensiv und die Vielfalt der Farbtöne läßt nach.

Pufferlösungen mit sekundärem Natriumphosphat werden auch hier zur Klärung der Farbeschwelle hergestellt; bei  $p_H$  5,92 ( $9 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 1 \text{ Na}_2\text{HPO}_4$ ) können schon schwache Zellsaftanfärbungen beobachtet werden. Jedoch sind an einigen Zellpartien auch die Membranen blau gefärbt. Die Grenzbestimmung zeigt demnach, daß die vitale Zellsaftfärbung bei  $p_H$  5,92 auftritt, daß aber die Membranfärbung lebender Zellen mit dem vorhergehenden  $p_H$ -Wert noch nicht abgeschlossen ist.

Im sauren Bereich zeigen sich bis etwa  $p_H$  3,1 ( $0,5 \text{ HCl} + 9,5 \text{ KH}_2\text{PO}_4$ ) hellblaue Membranfärbungen an lebenden Zellen.

Es ist heute eine bekannte Tatsache, daß das Verhalten der Zellmembranen lebender und abgestorbener Zellen nicht immer das gleiche ist. So färben sich die mit Nilblau Sulfat gefärbten Membranen

lebender Zellen hellblau an . . . . . Nr. 14

toter Zellen violett . . . . . Nr. 15

Becker (1936) berichtet, daß man annehmen muß, daß in der Zellwand lebender bzw. toter Zellen verschiedene Stoffe vorhanden sind, welche ihrerseits die Zellwandfärbung erleichtern bzw. verhindern.

Die blauen Vakuolen von Nilblau Sulfat weisen durch die Entfärbbarkeit mit  $\text{NH}_3$  wiederum auf das Vorhandensein von Ionen hin. Der Farbstoff wird in die Membranen verlagert, wobei der Vorgang ein reversibler ist.

Versuche an der Außenepidermis zeigen ebenso im alkalischen Bereich Vakuolenfärbungen. Die Zellsäfte sind allgemein grün bis gelbgrün (Nr. 18 bis 19); schnittrandnahe Zellen zeigen Einzelkontraktionen.

Dieser Farbstoff ist zur Bildung von Entmischungskugeln besonders geeignet, was allerdings nur in vollen, speicherstoffführenden Zellen zu beobachten ist. Als Parallelversuch zur Zwiebelaußenepidermis wurden die vollen Zellsäfte der Epidermis des Stengels von *Tradescantia* gewählt, wo nach kurzer Zeit die zahlreichen, dunklen Entmischungskugeln auftreten, die bei den Zellen der Zwiebelinnenepidermis fehlen.

Die Zellen des Parenchyms sind hellblau gefärbt; die Anfärbungen der Vakuolen fallen allerdings schon bei  $p_H$  6,0 ( $9,5 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 0,5 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) aus. Versuche mit  $\text{NH}_3$ -Lösungen entfärben das Parenchym, nicht aber die Zellen der Außenepidermis.

Die Anfärbungen an austreibenden Zwiebeln zeigen analog den vorhergehenden Versuchen volle und leere Zellen nebeneinander.

#### Farbbestimmung nach Ostwald

	Farbtonnummer
Blauer Zellsaft (Ionenfärbung) . . . . .	13—14
Grüner Zellsaft, chemisch gebunden . . . . .	18—19
Membran . . . . .	14
Koaguliertes Plasma . . . . .	16
Gequollener Kern . . . . .	14
Parenchym . . . . .	14

## Innenepidermis

$p_H$	Vakuole	Membran	gequ. P.	koag. P.	Kern
8,75	++	—	—	+	—
7,1	++	—	—	+	—
6,0	+	—	—	+	—
4,8	—	++	—	+	—

## 6. Capriblau

Capriblau gehört zu der Gruppe der Oxazinfarbstoffe und wird in der neueren Literatur wenig erwähnt. Der Grund liegt zum Teil darin, daß der Farbstoff eine sehr lange Versuchsdauer erfordert. Die Vakuolenfärbungen durch Capriblau bei alkalischen  $p_H$ -Werten sind höchst einheitlich. Eine sehr bemerkenswerte Eigenschaft dieses Farbstoffes ist, daß keine elektroadsorptiven Anfärbungen der Zellwände vorkommen. So habe ich Anfärbungen von Membranen lebender Zellen niemals beobachten können. In sauren Farbbädern wurde das Capriblau in meinen Versuchen weder von den Vakuolen noch von den Membranen aufgenommen.

Anfärbungen bei  $p_H$  10,1 ( $4KH_2PO_4 + 6Na_3PO_4$ ) bei Zellen der Innenepidermis zeigen nach einer Anfärbungszeit von etwa 20–30 Min. hellblaue Vakuolen (Nr. 14). Dasselbe konnte bei den benachbarten  $p_H$ -Stufen beobachtet werden. Der Schnitttrand ist bemerkenswerterweise zumeist gar nicht oder nur schwach angefärbt. In nachträglich abgestorbenen Zellen sind die Membranen ebenfalls blau gefärbt; doch dürfte dies auf keiner Elektroadsorption beruhen, sondern vielmehr einer von Brauner (1933) gemachten Beobachtung gleichkommen, daß aus den Vakuolen abgetöteter Zellen (von *Spirogyra*) gewisse Stoffe in die Zellwand übertreten, dort „gerbend“ wirken und daß diese Stoffe es sind, die eine stärkere Färbung verursachen. Das infolge der Vak.-Ko. gequollene Plasma nimmt später des öfteren den Farbstoff auf, so daß dann entweder Vakuole und Plasma hellblau gefärbt sind, oder aber daß bereits ein nekrotischer Zustand erreicht ist, in welchem die Vakuole ausgeflossen und nur mehr das Plasma gefärbt ist (s. Kapitel Plasmafärbungen).

Die Färbeschwelle liegt nach Untersuchung mit Puffern mit sekundärem Natriumphosphat etwa bei  $p_H$  5,92.

Bei einem  $p_H$  um 4,8 ( $10KH_2PO_4$ ) unterbleiben die Vakuolenfärbungen. Anfärbungen der Membranen lebender Zellen finden aber — und im Gegensatz zu den üblichen Basenfarbstoffen — nicht statt. Nur die gequollenen Kerne, die anscheinend bei diesem  $p_H$  selbst dem koagulierten Plasma voran sind, färben sich hellblau an, wobei das Chromatingerüst besonders deutlich hervortritt und auch stärker gefärbt erscheint.

Es zeigt sich nun folgende Erscheinung, wenn wir bei diesem Farbstoff die übliche  $NH_3$ -Reaktion anwenden. Bei den bisher untersuchten Farbstoffen, die im sauren Teil der  $p_H$ -Reihe elektroadsorptive Membranfärbungen liefern, ergaben sich keine Schwierigkeiten, da wir stets sowohl aus der  $NH_3$ -Entfärbung der Vakuolen wie aus der Kationenadsorption der Zellmembranen schließen konnten, daß die Anfärbungen auf das Vorhandensein von Ionen zurückzuführen sind. Auch bei Capriblau können derartige Ent-

färbungen beobachtet werden. Der Farbstoff wird, wie in früheren Kapiteln beschrieben, in die Zellmembranen getrieben und läßt sich dort wieder nach Auswaschen des  $\text{NH}_3$  durch  $\text{H}_2\text{O}$  in die Vakuolen zurückverlagern. Dürfen wir aber in dem Umstand Entfärbung durch  $\text{NH}_3$  absolute Bestätigung für das Vorhandensein von Ionen sehen? — Es ist eine beachtenswerte aber noch nicht geklärte Tatsache, daß bei Anfärbungen durch Capriblau die für ionenführende Farblösungen charakteristische Reaktion der elektroadsorptiven Anfärbung an den Zellulosemembranen unterbleibt, aber dennoch die gefärbten Zellen der Innenepidermis durch  $\text{NH}_3$  entfärbt werden.

Um die Beobachtung, daß elektroadsorptive Anfärbungen der *Allium*-Zellen bei Capriblau fehlen, zu kontrollieren, habe ich als Vergleichsobjekt die Epidermis des Stengels von *Anthyllis vulneraria* gewählt. Das Objekt wurde gewählt, da bekannt ist (Höfler 1948b, 1949), daß die Haare von *Anthyllis* für elektroadsorptive Anfärbung besonders geeignet sind. Bei Färbung von Flächenschnitten des Stengels mit Neutralrot und Toluidinblau zeigen die Haare einerseits rote, andererseits eine blaue Farbe. Derartige Anfärbungen sind elektroadsorptiver Natur (nur die Färbung der Basalringe scheint nach Höfler auf chemischem Niederschlag zu beruhen).

Die gleichen Versuche mit *Anthyllis* wurden auch mit Capriblau unternommen. Es fehlen bei diesem Farbstoff die Anfärbungen, obwohl *Anthyllis*-Haare nachgewiesenermaßen leicht elektroadsorptive Bindungen eingehen. Nur die Basalscheiben der Haare sind hellblau gefärbt. Bei Zusatz einer  $\text{CaCl}_2$ -Lösung unterbleibt eine Auswaschung, oder sie ist doch nur gering, wie nach Anfärbungen mit Rhodamin B. Es ist ja bekannt (Ruhland 1918, Strugger 1949), daß der undissoziierte Farbstoff Rhodamin keine elektroadsorptive Anfärbungen hervorbringt. Dieser wurde daher als vierter Vergleichsfarbstoff für *Anthyllis* herangezogen. Es handelt sich bei Rhodamin, wie wir auch bei Capriblau annehmen, nur um eine schwache chemische Niederschlagsfällung.

Wir werden demnach nicht umhin können, aus den beschriebenen *Allium*-Versuchen den Schluß zu ziehen, daß die Entfärbung des Zellsaftes noch kein Beweis für eine Ionenfärbung ist. Erst der Eintritt einer mit  $\text{CaCl}_2$  auswaschbaren Membranfärbung deutet darauf hin, daß im betreffenden Farbbad Ionen vorhanden sind.

Die Anfärbungen der Außenepidermis stimmen annähernd mit den bei der Innenepidermis erzielten Beobachtungen überein. Die Zellen zeigen jedoch seegrüne (Nr. 19) Vakuolen und haben nur selten und dann sehr schwache Einzelkontraktionen. Auch hier fehlen selbst im sauren Bereich die Membranfärbungen an lebenden Zellen.

Was die Zellen des Parenchyms anbelangt, so verhalten sich diese in ihren Anfärbungen gleich der Innenepidermis.

Was schließlich das Verhalten der Innenepidermis, die mit Akridinorange Mosaikfärbung aufweist, betrifft, so ließ sich auch nach Capriblaufärbung beobachten, daß sich zum Hauptteil Zellfelder mit blau gefärbten Vakuolen finden und nur einzelne Zellen mit seegrünen oder blaugrünen Zellsäften eingestreut sind.

## Farbbestimmung nach Ostwald

	Farbtonnummer
Hellblauer Zellsaft . . . . .	14
Grüner Zellsaft, chemisch gebunden . . . . .	19
Membran . . . . .	—
Koaguliertes Plasma . . . . .	14
Gequollener Kern . . . . .	14
Gequollenes Plasma . . . . .	14
Parenchym . . . . .	14

## Innenepidermis

$p_H$	Vakuole	Membran	gequ. P.	koag. P.	Kern
10,1	++	—	++	+	—
8,0	++	—	++	+	—
6,0	++	—	++	+	—
4,8	—	—	—	—	—

## 7. Neutralviolett

Neutralviolett zeigt im alkalischen  $p_H$ -Bereich intensive Vakuolenfärbung. Die Schnitte von der Innenepidermis ausgetriebener Zwiebel färben sich bei  $p_H$  8,0 ( $5 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 5 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) violett bis rot an. Violettrote und dunkelrote (Nr. 11–13) Anfärbungen beruhen auf chemischer Bindung, d. h. sie lassen sich durch  $\text{NH}_3$  nicht auswaschen, während sich die violetten (Nr. 13 bis 15) Farbtöne ohne weiteres entfärben lassen = leere Zellen. Vak.-Ko. tritt nur bei violett gefärbten Zellen auf.

Ein Versuch bei  $p_H$  4,8 zeigt etwa noch an einem Drittel des Präparates gefärbte Zellsäfte. Die übrigen Zellen haben gelbrote Membranen trotz sichtbarer Vitalität und Plasmaströmung. Der Schnitttrand ist elektroadsorptiv rostrot gefärbt.

## 8. Thionin pur.

Thionin, ein recht giftiger Farbstoff, zeigt aber bei kurzen Anfärbungen mit schwachen Konzentrationen Vitalfärbungen. Die Zellsäfte sind bei  $p_H$  10,1 ( $4 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 6 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) einerseits blau (Nr. 13–14), andererseits grün (19–20) gefärbt. In den grünen Zellen kommt es häufig zur Ausfällung von Farbstoffaggregaten; diese Zellen können als die sogenannten vollen, durch chemische Bindung gefärbten bezeichnet werden. In den blau gefärbten, leeren Zellen, die sich durch den Ammoniak entfärben lassen, tritt Vak.-Ko. auf.

Im sauren  $p_H$ -Bereich können keinerlei Anfärbungen mehr beobachtet werden, da der Farbstoff auch bei kürzester Einwirkung nicht mehr von den Zellen getragen wird.

## 9. Toluylenblau

Bei  $p_H$  10,1 ( $4 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 6 \text{ Na}_3\text{PO}_4$ ) und den unmittelbar darunter liegenden  $p_H$ -Werten treten bei diesem Farbstoff sehr intensive, metachromatische Vakuolenfärbungen auf. Die Vakuolen färben sich veildenviolett bis kardinalrot (Nr. 12–14), wobei beide Farbtöne, nach der Entfärbung



durch  $\text{NH}_3$  zu schließen, Ionenfärbungen entsprechen. Volle Zellen färben sich blaugrün (Nr. 20–22) an. Die Membranen lebender Zellen sind im sauren Bereich unterhalb des Umschlagpunktes violett gefärbt.

## II. Anfärbungen des nekrotischen Plasmas

Nach den verschiedenen Versuchen der Vitalfärbung der Zellsäfte seien hier Beobachtungen über die Färbung des Protoplasmas angereiht. Es gelangen nur basische Farbstoffe zur Untersuchung, obwohl auch saure Farbstoffe von zahlreichen Autoren zur diffusen Protoplasmafärbung benützt wurden und werden (Küster 1926, Gicklhorn 1930).

Eine kurze Literaturdurchsicht, wobei in erster Linie auf das Sammelreferat von Becker (1936) verwiesen sein soll, zeigt die Verschiedenheit der Standpunkte der einzelnen Autoren. Als klassische Arbeit über die Protoplasmafärbung seien die Versuche von Küster (1933) mit *Prune pure* erwähnt. Küster hat die Versuche mit Hilfe künstlicher Eingriffe gemacht, d. h. er hat den zu färbenden Präparaten Traumen zugefügt. Er beobachtet, daß das gequollene Plasma nur in den dem Trauma nächstliegenden Zellen angefärbt erscheint.

Ich möchte hier einige Beobachtungen zeigen, die die Frage behandeln, inwieweit das Plasma befähigt ist, auf die von mir angewandten Farbstoffe zu reagieren, sei es um diese im vitalen, nekrotischen oder koagulierten Zustand aufzunehmen.

Der schon früher erwähnte Farbstoff Capriblau ist im besonderen Maße geeignet, das infolge der Vak.-Ko. gequollene Plasma anzufärben. In den bei den entsprechenden  $p_H$ -Werten angefärbten Vakuolen der Zwiebelinnenepidermis zeigt sich, wie ja bekannt, Allgemeinkontraktion; dabei hebt sich der Tonoplast nicht von den Längswänden der Zelle ab, die Kontraktion erfolgt vielmehr an den Querwänden, wobei es zu einer Abrundung des Tonoplasten kommt. In den nun entstandenen Plasmaecken ist das Plasma mehr oder minder stark gequollen und nimmt den Farbstoff mit dem gleichen hellblauen Farbton der Vakuole auf, wobei dunkler angefärbte Mikrosomen deutlich erkennbar sind. Nicht allein die gequollenen Plasmaecken sind gefärbt, sondern auch der der Membran entlang ziehende Plasmaaum. B. M. B. ist mitunter, Plasmaströmung nicht in den gefärbten Plasmaecken zu erkennen. In abgestorbenen Zellen wird das koagulierte Plasma in gleicher Weise angefärbt. Nach einer Färbezeit von etwa 15–20 Min. können bei Capriblau folgende Zellzustände festgestellt werden:

1. Zellen mit gefärbten Vakuolen,
2. Zellen mit gefärbten Vakuolen und Vak.-Ko.,
3. Zellen mit gefärbten Vakuolen und gefärbten Plasmaecken,
4. ausgeronnene Vakuolenräume mit gefärbten Plasmaecken,
5. abgestorbene Zellen, gefärbtes, koaguliertes Plasma.

Bei dem Farbstoff Toluidinblau liegen bei der Anfärbung des Plasmas andere Verhältnisse vor. Wenn die angefärbten Vakuolen der Innenepidermis einer  $n/100$   $\text{NH}_3$ -Einwirkung längere Zeit ausgesetzt sind, fällt zunächst die violette Membranfärbung auf, bei der stets die Mittellamelle



etwas intensiver angefärbt ist als die beiderseits davon liegenden Verdickungsschichten. Das Eckenplasma erscheint mittelblau, die Mikrosomen treten auch hier deutlich hervor. Bei stärkerer Vergrößerung zeigt sich jedoch, daß nicht das ganze Plasma einheitlich diffus gefärbt ist, sondern daß eine dem Tonoplasten anhaftende Koagulumsschicht intensiver gefärbt ist.

Anfärbungen mit dem Farbstoff Brillanteresylblau sind deshalb interessant, da wir hier reversibel verändertes und irreversibel geschädigtes Plasma nebeneinander angefärbt sehen können. Wenn analog dem Versuch mit Toluidinblau die intensiv kornblumenblau gefärbten Vakuolen der Innenepidermis mit  $\text{NH}_3$  entfärbt werden, so wird der Farbstoff in erster Linie von den Membranen, mitunter aber auch vom Plasma aufgenommen. Dieses erscheint hellblau, bei länger andauernder  $\text{NH}_3$ -Einwirkung aber dunkelblau. Ist das Plasma durchwegs diffus hellblau angefärbt, so zeigt sich beim Durchsaugen von einer 0,5 mol.  $\text{CaCl}_2$ -Lösung folgendes Ergebnis: der Vorgang ist ein reversibler, der Farbstoff gelangt wiederum in die Vakuole, wobei ein Farbtonunterschied zwischen primärer und sekundärer (d. h. normale Anfärbung und Anfärbung nach der  $\text{NH}_3$ -Reaktion) Anfärbung besteht.

primäre Vakuolenfärbung kornblumenblau Nr. 14

sekundäre Vakuolenfärbung blauviolett Nr. 15.

Die Membranen erscheinen wieder farblos, das Plasma hat eine schwache Färbung beibehalten, ist jedoch noch imstande, sich gemeinsam mit der Vakuole zu kontrahieren. Bei dunkelblauer Anfärbung des Plasmas finden nach Rückverlagerung mit  $\text{CaCl}_2$  keine normalen Plasmolysen mehr statt. Man kann in diesem Fall nur mehr von einem Tonoplastenstadium sprechen. Brillanteresylblau ist demnach, reversibel gequollenes Plasma hellblau, schon stark verändertes, irreversibel gewordenenes dagegen dunkelblau anzufärben.

Bei Versuchen mit Nilblau Chlorhydrat können wir ähnliche Ergebnisse wie bei Capriblau beobachten, doch erscheint Nilblau zur Beobachtung minder geeignet. Auch hier zeigt sich bei Zellen mit angefärbten Vakuolen, die Allgemeinkontraktion aufweisen, eine diffuse Anfärbung des Eckenplasmas, welche hellblau ist, während die Vakuolen viel intensiver und mehr blauviolett erscheinen.

Es sei nun ein Farbstoff, das Rosanilin, erwähnt, bei dem Plasmafärbungen zu beobachten sind, welche jedoch auch mit einer nachweislichen Veränderung der Zellen Hand in Hand gehen. Die Anfärbungen der intakten Zelle erstrecken sich auf die verschiedensten Zellbestandteile. Ein Zwiebelschnitt der Innenepidermis zeigt im alkalischen Bereich, daß das infolge von Allgemeinkontraktion gequollene Plasma schwach violett gefärbt ist. Wird dieses Präparat in eine Lösung mit 1 mol. Trbz. gebracht, so tritt Plasmolyse ein, wobei die violette Anfärbung des Plasmas immer deutlicher zu erkennen ist. Vielfach ziehen sogar gefärbte Plasmasepten von einer Zellmembran zur anderen. Trotzdem die Zelle noch Plasmolyse zeigt, muß im Plasmaineren eine gewisse Strukturveränderung beobachtet werden.

Zum Schluß seien noch Färbungen des stark nekrotischen Plasmas durch

den Farbstoff Magdalarot erwähnt, der in der Literatur wenig bekannt und dem auch nicht allzu viel Bedeutung beizumessen ist. Der Farbstoff ist wesentlich in bezug auf die Vakuolenfärbung, die anscheinend auf noch unbekannte Bindung an Vakuolenstoffe beruht, da durch  $\text{NH}_3$  keine Entfärbung erfolgt. Im alkalischen Bereich zeigt die Innenepidermis hellrosa Vakuolenfärbungen an lebenden Zellen. Bei sauren  $p_{\text{H}}$ -Werten, etwa  $p_{\text{H}}$  4,8, können nur mehr rosa gefärbte Membranen beobachtet werden. Setzt man aber das Präparat einer etwas längeren Einwirkung des Farbstoffes aus, so entsteht ein Bild stark nekrotischer Natur. Einige Zellpartien zeigen nach wie vor rosa Zellwände bei vollständig farblosem, lebendem Zellinhalt. Bei anderen Zellpartien, denen man sogleich ihren nekrotischen Zustand ansieht, fehlen die Membranfärbungen. Der Zellsaft scheint bereits ausgeflossen und nur mehr der starre Tonoplast vorhanden zu sein. Hier sind die Plasmaecken intensiv diffus rot angefärbt. In derartig angefärbten Zellen kann auch keine B. M. B. mehr beobachtet werden. Jedoch kann dieser stark nekrotische Zustand noch längere Zeit von den Zellen ertragen werden, ehe es zum vollständigen Zerfall der Protoplasten kommt.

In der nachstehenden Tabelle habe ich kurz meine Ergebnisse über Plasmafärbungen zusammengefaßt. Ich unterscheide dabei drei verschiedene Zustände des Plasmas. In die Gruppe I fallen die Plasmafärbungen der völlig intakten Zelle; d. h. hier muß noch Strömung sowie B. M. B. beobachtet werden. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, kommt dies für die wenigsten von mir angewandten Farbstoffe in Betracht. Ich habe daher aus statistischen Gründen hier noch einen in der Literatur weithin bekannten Farbstoff für Plasmafärbung, Chrysoidin erwähnt. — Die zwei darauffolgenden Gruppen der Tabelle beinhalten zwei verschiedene weit fortgeschrittene Stadien der Plasmaquellung und ihre damit verbundene Anfärbung. Anfärbungen, bei denen noch B. M. B., aber nicht mehr Strömung sichtbar ist, fallen unter die Rubrik II. Bei III hat das Plasma wohl schon sichtbare Veränderungen erfahren, ist aber noch in seiner gestaltlichen Form zu erkennen.

#### Plasmafärbungen

Farbstoff	norm. Plasma I	gequ. P. II	gequ. P. III	dir. koag. P.
Capriblau . . . . .	—	+	+	+
Toluidinblau . . . . .	—	—	+	+
Brillanteresylblau . . . . .	—	—	+	+
Nilblau Sulfat . . . . .	—	—	—	+
Nilblau Chlorhydrat . . . . .	—	+	+	+
Magdalarot . . . . .	—	—	+	+
Rosanilin . . . . .	+	+	+	+
Toluylenblau . . . . .	—	—	+	+
Neutralviolett . . . . .	—	—	—	+
Thionin pur. . . . .	—	—	—	+
Chrysoidin . . . . .	+	+	+	+ <sup>1</sup>
Prune pure . . . . .	—	+	+	+ <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Die zwei letztgenannten Farbstoffe wurden nur zum Vergleich in diese Tabelle aufgenommen.

### Zusammenfassung

1. Die vorliegenden Untersuchungen behandeln experimentell die Frage der verschiedenen Speichermechanismen der Vitalfärbung.

2. Höfler (1948) hat die Beobachtung gemacht, daß in sogenannten leeren, d. h. speicherstofffreien Zellen die Zellsäfte nach Anfärbung mit Akridinorange im UV-Licht eine rote Färbung zeigen, die wahrscheinlich auf das Vorhandensein von Farbkationen zurückzuführen ist, während in den vollen, speicherstoffführenden Zellen die grüne Fluoreszenzfärbung durch Löslichkeitsspeicherung und gleichzeitige Bindung des Farbstoffes an zelleigene Stoffe geschieht. Eine ähnliche Metachromasie im Hellfeld wurde bei Neutralrot gefunden und wird in dieser Arbeit auch bei anderen basischen Hellfeldfarbstoffen beschrieben.

3. Toluidinblau: Der Farbstoff wird in leeren Zellen in der Vakuole mit blaugrauem Farbton gespeichert, jedoch nur im extrem alkalischen  $p_H$ -Bereich, wo ausreichend Moleküle im Farbbad vorliegen. Der Umschlagpunkt liegt hier hoch in der  $p_H$ -Reihe bei etwa  $p_H$  10,1. Darunter werden nur die Membranen angefärbt. Die Färbeschwelle der vollen Zellsäfte der Zwiebelaußenepidermis liegt dagegen tiefer. Die Anfärbung der Vakuolen ist blaugrün bis grün.

4. Brillanteresylblau: Die Vakuolenanfärbungen der leeren Zellen der Innenepidermis reichen viel tiefer in der  $p_H$ -Reihe hinunter als bei Toluidinblau. Die Vakuolen sind kornblumenblau gefärbt; im sauren Bereich färben sich nur die Membranen. Der Farbstoff ist als relativ unschädlich zu bezeichnen, da auch längere Anfärbungszeiten von den Zellen ausgehalten werden. Die neuerliche Anfärbung nach der  $NH_3$ -Entfärbung unterscheidet sich im Farbton von der normalen kornblumenblauen Färbung. Was die Anfärbungen der Außenepidermis betrifft, sind die Zellsäfte grünlich gefärbt und es treten zahlreiche Entmischungskugeln auf.

5. Nilblau Chlorhydrat: Die Vakuolenfärbung der Innenepidermis beginnt erst bei  $p_H$  8,0. Darunter zeigen sich wiederum Membranfärbungen an lebenden Zellen. Die leeren Zellsäfte sind blauviolett und zeigen Vak.-Ko. In den Zellen der Außenepidermis treten ebensolche Vakuolen- bzw. Membranfärbungen auf. Doch erscheinen die gefärbten Zellsäfte gelbgrün und man kann nur Einzel- bzw. Wundrandkontraktion beobachten. Durch die Unbeständigkeit des Farbstoffes werden die Versuche sehr erschwert.

6. Nilblau Sulfat: Auch dieser Farbstoff ist geeignet, leere und volle Zellen zu unterscheiden. Erstere färben sich mit verschiedenen metachromatischen Farbtönen an und lassen sich durch die  $NH_3$ -Reaktion entfärben. Bei vollen, d. h. speicherstoffführenden Zellen sind die Anfärbungen einheitlicher, aber deutlich von ersteren zu unterscheiden. Bei diesen Zellen unterbleiben die Vak.-Ko. Bemerkenswert für diesen Farbstoff ist das Auftreten von zahlreichen Entmischungskugeln in vollen Zellen, eine Eigenschaft, die beim sonst ähnlichen Chlorhydrat ausgeblieben ist.

7. Capriblau: Capriblau nimmt unter den bisher beschriebenen Farbstoffen eine gewisse Sonderstellung ein. Die Anfärbungen können hier nicht ohne weiteres auf das Vorhandensein von Ionen zurückgeführt werden, trotzdem die angefärbten Vakuolen der Innenepidermis sich einfach durch

$\text{NH}_3$  entfärben lassen. Elektroadsorptive Membranfärbungen fehlen; der Farbstoff scheint demnach, so wie bei Rhodamin, in dem in Betracht kommenden  $p_H$ -Bereich in undissoziierter, molekularer Form vorzuliegen. Nur die Membranen absterbender Zellen zeigen Anfärbungen nach den von Brauner (1933) beschriebenen Beobachtungen. — Die Anfärbungen mit Capriblau brauchen eine bedeutend längere Zeitspanne, als es bei anderen Farbstoffen der Fall ist. Dabei ist zu bemerken, daß das Tempo der Anfärbung nicht  $c_H$ -abhängig ist; dieses geht bei  $p_H$  10,1 genau so langsam vor sich als bei  $p_H$  7,1. — Von besonderem Interesse ist die bisher ungeklärte Erscheinung, daß trotzdem die Zellen der Innenepidermis, die doch speicherstofffrei, also leer sind, im alkalischen  $p_H$  deutliche Diffusfärbung aufweisen.

8. Bei Versuchen mit austreibenden Zwiebeln konnte Bunt- bzw. Mosaikfärbung bei den verschiedenen Farbstoffen beobachtet werden, worunter man die bunte, vielfarbige Färbung der Vakuolen versteht, wobei sich benachbarte Zellsäfte in ziemlich weitem  $p_H$ -Bereich in verschiedener Weise anfärben.

9. Im Parenchym der Zwiebelschuppen, welches ansonsten gleich der Innenepidermis reagiert, unterbleiben jegliche Kontraktionen. Auch Mosaikfärbung konnte niemals beobachtet werden.

10. Bekanntlich nimmt totes und nekrotisches Plasma die basischen Farbstoffe gieriger auf als lebendes. Bei den von mir untersuchten Farbstoffen fand ich in bezug der Fähigkeit, nekrotisches Plasma anzufärben, gewisse spezifische Unterschiede.

a) Bei Toluidinblau nimmt das Plasma erst im stark nekrotischen Zustand den Farbstoff auf.

b) Eine ähnliche diffuse Anfärbung des Plasmas findet sich bei Brillantcresylblau.

c) Bei Nilblau Chlorhydrat färbt sich bereits das gequollene Plasma an.

d) Bei Capriblau ist das durch Vak.-Ko. gequollene Plasma mit dem gleichen hellblauem Farbton der Vakuole angefärbt, wobei stets dunkler angefärbte Mikrosomen deutlich erkennbar sind. B.M.B. ist mitunter, Plasmaströmung niemals an den gefärbten Plasmaecken zu erkennen.

e) Auch bei Rosanilin können Plasmafärbungen in noch relativ unbeschädigten Zellen beobachtet werden.

f) Magdalarot färbt nur das nekrotische Plasma.

#### Literatur

- Becker, 1936: Vitale Cytoplasma-Kernfärbung. *Protoplasma* 26, 439.  
 Brauner, 1933: Zur Frage der postmortalen Farbstoffaufnahme von Pflanzenzellwänden. *Flora* 127, 190.  
 Czaja, 1934: Untersuchungen über metachromatische Färbungen von Pflanzengewebe. *Planta* 21, 531.  
 — 1937: Untersuchungen über den Membraneffekt des Absorptionsgewebes und über die Farbstoffaufnahme in die lebende Zelle. *Planta* 26, 90.  
 Drawert, 1938: Über die Aufnahme und Speicherung von Prune pure in pflanzlichen Zellen. *Planta* 29, 179.  
 — 1938: Beiträge zur Entstehung der Vak.-Ko. nach Vitalfärbung mit Neutralrot. *Ber. d. bot. Ges.* 56, 123.

- Drawert, 1939: Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. Versuche mit Rhodaminen. *Planta* 29, 376.
- 1940: Desgl. II. Die Aufnahme basischer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. *Flora* 54, 159.
- 1941: Desgl. III. Die Aufnahme saurer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. *Flora* 55, 21.
- 1948: Desgl. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes und des Außenmediums auf die Harnstoffaufnahme. *Planta* 35.
- 1949: Zur Frage der Methylenblauspeicherung in Pflanzenzellen II. *Ztschr. Naturforschung* 4b, Heft 1.
- u. Strugger, 1938: Zur Frage der Methylenblauspeicherung in Pflanzenzellen I. *Ber. d. bot. Ges.* 56, 43.
- Gieklhorn, 1930: Zur Frage der Lebendbeobachtung und Vitalfärbung von Chromosomen pflanzlicher Zellen. *Protoplasma* 10, 345.
- Guilliermond-Atkinson, 1941: *The Cytoplasm of the Plant Cell*. Waltham.
- Hofmeister, 1940: Mikrurgische Studien an Borraginoideenzellen I, II. *Protoplasma* 35, 65.
- Höfler, 1939: Kappenplasmolyse und Ionenantagonismus. *Protoplasma* 33, 545.
- 1947: Was lehrt die Fluoreszenzmikroskopie von der Plasmapermeabilität und Stoffspeicherung? *Mikroskopie* 2, 13.
- 1948: Einige Nekrosen bei Färbung mit Akridinorange, *Sitzber. Österr. Ak. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. 1*, 585.
- 1949: Beiträge zur Fluoreszenzmikroskopie, Fluorochromierungsstudien an Pflanzenzellen I. Sonderband der *Ztschr. Mikrosk.* 46.
- u. Stiegler, 1947: Cresylechtviolett als Vitalfarbstoff. *Mikroskopie* 2, 250.
- Irwin, 1925: The penetration of dyes as influenced by hydrogen ion concentration. *Journ. Gen. Physiol.* 5, 727.
- Küster, 1918: Über Vitalfärbung der Pflanzenzellen. *Ztschr. wiss. Mikrosk.* 35, 95.
- 1926: Über vitale Protoplasmafärbung. *Ztschr. wiss. Mikrosk.* 43, 373.
- 1933: Über Färbung lebenden Protoplasmas von Pflanzenzellen mit Prune pure. *Ztschr. wiss. Mikrosk.* 50, 409.
- Rehm, 1938: Die Wirkung von Elektrolyten auf die Aufnahme saurer und basischer Farbstoffe durch die Pflanzenzelle. *Planta* 28, 359.
- Ruhland, 1912: Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. *Jb. Bot.* 51, 376.
- Strugger, 1931: Zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Erythrosin. *Ber. d. bot. Ges.* 49, 453.
- 1932: Über das Verhalten des pflanzlichen Zellkernes gegenüber Anilinfarbstoffen. *Planta* 18, 561.
- 1935a: *Praktikum der Zell- und Gewebsphysiologie der Pflanzen*. Borntraeger, Berlin.
- 1935b: Beiträge zur Gewebsphysiologie der Wurzel, zur Analyse und Methodik der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. *Protoplasma* 24, 108.
- 1936: Beiträge zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. *Protoplasma* 26, 56.
- 1940: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Aufnahme und Speicherung des Akridinorange durch lebende und tote Pflanzenzellen. *Jenaische Ztschr. Naturw.* 73, 97.
- 1949: *Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie*. M. u. H. Schaper, Hannover.
- Wulff, 1934: Lebendfärbungen mit Chrysoidin. *Planta* 22, 70.



# Plasmolyse mit Natriumkarbonat

Zur Frage des Plasmalemmas bei Süßwasseralgen und bei Gewebszellen von Landblütenpflanzen

Von

**Karl Höfler**

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien)

Mit 6 Textabbildungen

(Eingelangt am 28. Februar 1951)

Inhaltsverzeichnis		Seite
Einleitung . . . . .		426
1. Gewebszellen . . . . .		429
2. Desmidiaceen . . . . .		438
3. Andere Algen:		
A. Zygnemales . . . . .		445
B. Chlorophyceae . . . . .		449
C. Cyanophyceae . . . . .		450
Rückblick und Besprechung . . . . .		451
Zusammenfassung . . . . .		456
Literatur . . . . .		457

## Einleitung

Das Problem der Plasma-Hautschichten zählt zu den schwierigsten der Zellenlehre. Die meisten Forscher nehmen an, daß die Plasmahäute vom Binnenplasma stofflich wesentlich verschieden sind. Die klassische Vorstellung schreibt ihnen zudem die alleinige oder die Hauptrolle beim Zustandekommen der Semipermeabilität zu, d. h. es wird angenommen, daß der Diffusionswiderstand, zumindest für vorwiegend hydrophile Substanzen, nicht dem ganzen Plasma zukomme, sondern in den Hautschichten lokalisiert sei. Bekanntlich wird die innere Plasmahautschicht seit de Vries als Tonoplast, die äußere mit Seifriz und Plowe als Plasmalemma bezeichnet.

Zur Kenntnis des Plasmalemmas haben Plowes (1951 a, b) mikrochirurgische Versuche entscheidend beigetragen. Recht anschaulich ist u. a. der folgende Versuch. Wird aus der Oberfläche des plasmolysierten Protoplasten von Zwiebelzellen mit der Mikronadel ein Strang Plasmas lange ausgezogen, so fließt alsbald das Mesoplasma zu perlschnurartig aufgereihten Tröpfchen zusammen, zwischen denen ein Verbindungsstrang aus Plasmalemmasub-



stanz bestehen bleibt (vgl. Abb. Protoplasma 12, S. 204). Ähnliche Bilder bekommt jeder Mikroskopiker zu sehen, wenn sich Protoplaste in langgestreckten Zellen nach Plasmolyse teilen; sie beweisen, daß Plasmalemma und Binnenplasma substantiell verschieden sind. Plowe konnte zeigen, daß das Plasmalemma hoch elastisch ist, während das Mesoplasma nur eine geringe, wenn auch noch wahrnehmbare Elastizität besitze. Am Aufbau des Plasmalemmas müssen daher Protein-Kettenmoleküle hervorragenden Anteil haben. Frey-Wyssling (1935, S. 144 f.) hat diesen Gedanken mit Nachdruck vertreten und zur allgemeinen Anerkennung gebracht. „Wahrscheinlich ist das Eiweißgerüst des Cytoplasmas in den äußeren Grenzgebieten dichter gebaut und geht nach innen ganz allmählich in ein viel lockereres Gewebe über“ (1938, S. 157); „the elastic plasmalemma possesses a structure with polypeptid chains“ (1948, S. 126).

Die Vorstellung, daß die beiden Plasmagrenzschichten, Plasmalemma und Tonoplast, meist stofflich wesentlich verschieden sind (Plowe 1931, Höfler 1931), hat sich wohl schon recht allgemein durchgesetzt. Aus Chambers' und Höflers (1931) mikrurgischen Untersuchungen ging hervor, daß der Tonoplast von *Allium cepa* aus einer kohäsiven, leicht beweglichen, mit Wasser nicht mischbaren, vorwiegend lipoiden Flüssigkeit besteht.

Eine anschauliche Beobachtung, die die stoffliche Verschiedenheit der Grenzschichten vor Augen führt, hat Tiroid (1933) für *Vaucheria* beschrieben. Wenn sich der Protoplast nach Zuckerplasmolyse teilt und die Stücke seitlich verschieben, so erfahren die zwischen Plasma und Zellwand ausgespannten Hechtschen Fäden einen seitlichen Zug in der Richtung der Teilstücke und der Winkel, mit dem sie der Plasmaoberfläche aufsitzen, wird immer spitzer: Die Fußpunkte der Plasmafäden am Protoplasten sind fix. Der Tonoplast ist bei *Vaucheria* (und anderen Algen) ähnlich beschaffen wie bei *Allium*. Zieht man hier aus dem Tonoplasten Fädchen mit der Mikronadel aus und bewegt diese dann seitlich, so wandern die Fädchen mit der Nadel hin und her und ihr Fußpunkt steht immer senkrecht auf der leicht flüssigen Unterlage.

Die Frage nach der Rolle der Plasmagrenzschichten bei der Permeation gelöster Substanzen muß getrennt werden von der Frage nach ihrer stofflichen Zusammensetzung. Die vordem herrschende Vorstellung, daß der Diffusionswiderstand auf die lipoiden Plasmahäute beschränkt, das Binnenplasma aber frei diffusibel sei, wird nicht mehr von allen Forschern geteilt. Es sei auf die historisch kritische Darstellung bei Lepeschkin (1938, S. 126, 145), die wohl noch zu wenig Beachtung gefunden hat, verwiesen. Bekannt ist, daß der Tonoplast oft für hydrophile Stoffe den Hauptwiderstand bietet. So dringen Alkalisalze vielfach leicht, d. h. in großer Menge, durch Plasmalemma und Binnenplasma und schwer, d. h. in geringer Menge, durch den Tonoplasten bis in den Zellsaft. Die Intrabilität des Protoplasten für Salze ist größer als seine Permeabilität. Ich habe aber, als ich diese Termini vorschlug, auch schon hervorgehoben (1932, S. 475), „daß sich für verschiedene permeierende Stoffe die Teilwiderstände im Plasmaschlauch verschieden ver-

teilen. Lipoidunlösliche oder wenig lösliche Stoffe, wie Salze, werden ihren Hauptwiderstand im Tonoplasten finden, bei der Permeation lipoidlöslicher Stoffe wird der Teilfaktor T weniger ins Gewicht fallen“.

Nur für die innere Plasmaoberfläche ist die Existenz eines lipoiden Grenzhäutchens als Träger selektiver Permeabilität, im Sinne der Overtonischen Theorie, erwiesen — nicht aber für die Außenoberfläche. Wir wissen nicht, ob und wie weit das Plasmalemma auch durch Lipoidreichtum vor dem angrenzenden Binnenplasma ausgezeichnet ist. — Für lipophile Diosmotika glaube ich nun annehmen zu dürfen, daß sie beim Durchtritt durchs Plasma den Weg über eine zusammenhängende Phase mit lipoiden Lösungseigenschaften nehmen, die kontinuierlich von der Außenoberfläche bis an die Innenoberfläche des Plasmaschlauches reicht. (Die Vorstellung wird anderwärts näher zu begründen sein.) Für hydrophile Substanzen hingegen braucht auch das Plasmaminnere nicht frei wegsam zu sein.

Um den Grenzfall zu bezeichnen, hatte ich in vortragsmäßiger Darstellung (1931, S. 94) gesagt: „Ob auch die Außenhaut (wo sie nicht an wässrige Phase grenzt) das Binnenplasma an Durchtrittswiderstand übertrifft, ja ob sie als differenzierte Schichte überhaupt vorhanden ist, das wissen wir nicht. Eintritt gelöster Stoffe ins Zytoplasma und Durchtritt (Permeation) bis in den Zellsaft Raum muß wohl unterschieden werden.“ — Weber (1931, S. 450) ist dem entgegengetreten, und ich habe seiner Kritik (1932, S. 471) in diesem Punkte rechtgegeben. Ich hatte unterschieden zwischen Protoplasten in Zellen, die nach außen an Wasser grenzen, und den Protoplasten der Gewebszellen von Landpflanzen, die an eine im Gewebe beschlossene Zellmembran (aus Zellulose oder Pektin) grenzen; nur für die ersteren hielt ich den Besitz eines erschwert durchgängigen Plasmalemmas für funktionell wahrscheinlich und experimentell gesichert. Beweisend erschienen u. a. die Mikroinjektionen ins Mesoplasma (Chambers, Plowe, Kerr u. a.). Wäßrige Lösungen von Stoffen, die von außen her nicht einzudringen vermögen, verbreiten sich bis an die innere und äußere Plasmagrenzfläche, ohne diese zu passieren. Weber verwies aber darauf, daß solche Versuche von Plowe auch an *Allium*-Zellen mit Erfolg ausgeführt worden waren. Er sagt (1931, S. 458): „Dem Gedanken, daß Protoplaste von Landpflanzen, die an eine Zellmembran (Zellulosemembran) grenzen, ein Plasmalemma nicht besitzen und nicht zu besitzen brauchen, kann nicht zugestimmt werden. Erstens stellt ja auch die Zellmembran ein wasser- und salzdurchtränktes Medium dar und die Bedingungen zur Plasmahautbildung an der äußeren Oberfläche des Protoplasmas dürften daher nicht so wesentlich andere sein als bei einem ‚nackten‘ Protoplasten in Wasser. Zweitens wäre die Gefahr des Substanzverlustes eben infolge des wasserimbibierten Zustandes der Zellmembran auch bei Landpflanzen nicht beseitigt, wenn kein semipermeables Plasma vorhanden wäre.“

So kann die Frage nicht mehr lauten, ob ein distinktes Plasmalemma nur den Zellen von Wasserpflanzen zukomme oder auch den im Gewebeverband beschlossenen Zellen; — doch bleibt die Frage berechtigt, ob das Plasmalemma

bei den an Wasser grenzenden Zellen nicht besser ausgebildet bzw. stärker vom Binnenplasma differenziert sei. Funktionelle Erwägungen machen eine solche bevorzugte Ausbildung durchaus wahrscheinlich. „The plasmalemma is protective in function“, sagt schon Plowe. Für eine solche Annahme sprachen mir manche Beobachtungen. Doch fehlen ja vergleichende Versuche über die Ausbildung des Plasmalemmas und seine „Schutzfunktion“ bei verschiedenen Zelltypen bis heute noch fast ganz. — Auch ich bin experimentelle Beiträge zur Frage reichlich lange schuldig geblieben.

Die Frage ist offenbar auch von grundsätzlicher Bedeutung für das Resistenz-Problem. Die vergleichende Resistenz-Forschung ist in jüngster Zeit in den Vordergrund getreten (Biebl 1947—1950). Wenn eine Substanz binnen gleicher Zeit die einen Zellen tötet, die anderen am Leben läßt, so kann dies zweierlei Ursache haben: Das Plasmalemma ist bei den einen Zellen für die betreffenden Stoffe durchlässig, bei den anderen nicht, d. h. die Intrabilität ist hoch bzw. niedrig. Oder die Stoffe treten in beiden Fällen ein, aber die einen Zytoplasmen sind gegen sie unempfindlich, die anderen werden getötet. — Daß nicht die Giftwirkung an sich als Maß für die Permeabilität verwendet werden darf, wie dies in älterer Zeit versucht worden war, hat schon Stiles (1924) in seiner Monographie dargetan.

Ein Arbeitsaufenthalt in der Ramsau bei Schladming gab mir im Spätsommer 1950 Gelegenheit, mich mit diesen für die vergleichende Protoplastematik wichtigen Fragen näher zu beschäftigen. Die im folgenden mitgeteilten Versuche an Gewebszellen sind im September 1950 in der Ramsau, die Versuche an Algen dort und in den vier folgenden Monaten in Wien durchgeführt worden.

Für die Herstellung der Abbildungen sage ich Herrn Dozenten Dr. H. Schindler herzlichen Dank.

## I. Gewebszellen

Bringt man die Innenhäutchen der Zwiebelschuppen von *Allium cepa* in hypertonische  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung, so tritt bald in allen Zellen Tonoplastenplasmolyse, d. h. eine osmotische Kontraktion allein der Vakuolen ein. Eine solche ist von de Vries (1885) an Spirogyren und anderen Zellobjekten durch stark hypertonische  $\text{KNO}_3$ -Lösung, später an *Allium*-Innenepidermiszellen von Strugger (1931, 1932, 1949, S. 178) durch KCNS oder durch Färbung mit Erythrosin und nachherige Behandlung mit  $\text{KNO}_3$  erzielt worden. Weber (1932, S. 527) hat Zwiebelzellen 1 Minute lang mit 0,1 mol. Kaliumoxalat vorbehandelt und dann mit einer stark hypertonischen Lösung von Harnstoff (2 mol.) plasmolysiert; „dabei stirbt das Protoplasma bei Beginn der Plasmolyse fast momentan ab, und zwar in allen Zellen, auch in den vom Wundrande weit entfernten; die ‚überlebende‘ Vakuole verkleinert ihr Volumen“. Eine solche „Behandlung gibt vollkommen einheitliche Resultate und kann daher als einfachstes, sicherstes und am schnellsten zum Ziele führendes Verfahren zur Bildung von ‚Tonoplasten‘ (‚überlebenden Vakuolen‘) angesehen werden“.

Die Behandlung mit einfacher Sodalösung führt nun zum gleichen Ziel. Ich habe solche Versuche mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bisher nur einmal erwähnt (Höfler, 1948, S. 629). In einer gemeinsam mit Schindler durchgeführten Versuchsreihe wurden akridinorangegefärbte Zellen der Zwiebelinnenhäutchen mit 2*n*-Sodalösung behandelt; in allen Zellen trat eine starke Tonoplastenplasmolyse ein, wobei der Raum zwischen Zellwand und Vakuolenwand von totem, körnigem Plasma erfüllt war. Der Zellsaft blieb im UV-Licht unverändert rot; das beweist, da es sich um Färbung mit Akridinorange-Kationen handelt, die Erhaltung der natürlichen schwach sauren Zellsaftreaktion. Die Soda dringt durch die Vakuolenwandung nicht ein und macht die Inhalte nicht alkalisch, wie  $\text{NH}_3$ -Lösung es tut.

Die Tonoplastenbildung durch Soda erfolgt nun nicht etwa nur an vitalgefärbten und hiedurch oder durch die UV-Bestrahlung empfindlicher gewordenen Zwiebelzellen, sondern auch an unvorbehandelten, völlig intakten.

Ich verwendete in meinen Ramsauer Versuchen vom 4. bis 6. September 1950 frische, saftige, der Gartenerde entnommene Zwiebeln mit noch grünen Blättern.

Zunächst war zu untersuchen, ob nur stark hypertonische, rasch plasmolisierende Sodalösungen Plasmalemma und Binnenplasma töten, d. h. ob es sich bei der Tonoplastenbildung durch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bloß um eine erhöhte Plasmolyseintrabilität handelt. Ich brachte gleiche Präparate von derselben Zwiebel-  
schuppe in eine Reihe von Sodalösungen fallender Konzentrationen, die durch Verdünnung mit bidest.  $\text{H}_2\text{O}$  auf das 0,8-, 0,7-, 0,6-, 0,5-, 0,4-, 0,3-, 0,2fache aus Sodastammlösung (ca. 1,63 *n*) hergestellt worden waren. In allen hypertonischen Lösungen trat Tonoplastenplasmolyse ein. In 0,5 ergab sich Tonoplasten-Grenzplasmolyse, in 0,4 waren spitze Zellenden von körnig totem Plasma erfüllt, davor war die pralle Tonoplastenkontur sichtbar. Auch die Schnitte aus 0,3 und 0,2 waren nachher mit Zucker nicht mehr plasmolisierbar. — Auch iso- und hypotonische reine Sodalösungen töten also das Plasma bis an die Vakuolenwand hin.

Bei Wiederholung des Versuches fanden sich in ganz vereinzelt Zellen Kappenplasmolysen (deren Hundertsatz bei schwacher Hypertonie der Salzlösung nicht größer war als bei starker), fast überall fanden sich aber nur isolierte Tonoplasten; sie waren in langgestreckten Zellen in mehrere Stücke mit kugelkonvexen Menisken geteilt.

Die Tonoplastenbildung beruht also nicht bloß auf gesteigerter Plasmolyseintrabilität des Protoplasmas für  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Sondern auch in hypotonischer Sodalösung ist kein ausreichend schützendes Plasmalemma vorhanden und ist die Intrabilität für Soda so groß, daß diese ins Plasma dringt und es tötet, während die Tonoplasten standhalten.

<sup>1</sup> Die zu den ersten Versuchen verwendeten Einwaagen von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  waren, wohl wegen des Kristallwassers, nicht quantitativ. (Gleich hergestellte Lösungen wurden erst nachträglich in Wien titriert.) — Weiterhin wurden stets gestellte (von der Heilmittelstelle Wien bezogene) *n*- $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösungen und die daraus hergestellten Verdünnungen verwendet. — 1 mol  $\text{Na}_2\text{CO}_3 = 2\text{ n Na}_2\text{CO}_3$ .

Anschließend wurden im September 1950 Zellen von 20 weiteren Blütenpflanzen auf ihr plasmolytisches Verhalten in reiner Sodalösung geprüft. Ich will eine Auswahl dieser Versuche beschreiben.

1. *Rumex sanguineus*. Die großen Zellen vom Stengel und Blattstiel unserer *Rumex*-Arten liefern ein gutes Material für zellphysiologische Versuche verschiedener Art. Ich verwendete größere Schnitte von der flachen Oberseite des Blattstieles knapp unter der Lamina, sie waren streckenweise eine, dann mehrere Zellschichten dick („Stufenschnitte“). Die Schnitte wurden (wie die der folgenden Objekte) ohne vorherige Wässerung in die Fläschchen mit der hypertonischen *n*-Sodalösung eingebracht und diesen teils nach wenigen Minuten, teils später zur mikroskopischen Untersuchung entnommen.

In der Epidermis war allgemein Tonoplastenplasmolyse eingetreten, die Vakuolenwandungen, die in annähernd isodiametrischen Zellen ringsum frei lagen, waren kugelig gerundet. Im Parenchym war dagegen meist normale Plasmolyse eingetreten, die Protoplasten hatten schöne halbkugelige Menisken. Schon nach einigen (z. B. 6–10) Minuten zeigten aber auch die Parenchym-Protoplasten im Inneren eine gewisse Verstärkung der Konturen der Vakuolenwandungen, so daß etwa das Bild einer Kapfenplasmolyse mit gleichmäßig schmalem Plasmasaum entstand, worin die Chloroplasten in etwa gleichen Abständen lagen. Nach 15–20 Min. waren mehrfach die Außenkonturen kugelkonvex, die verschärften Tonoplasten im Inneren aber z. T. geschweift-gerundet. — Die isolierten Vakuolen der Epidermis zeigten unter der Wirkung der Sodalösung z. T. Gelbfärbung der Zellsäfte, die Vakuolen im Parenchym blieben farblos.

Die Versuche lassen erkennen, daß die Zellen der Epidermis viel weniger resistent gegen die Einwirkung der  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung sind als die des darunterliegenden Assimilationsparenchyms. Das Plasmolytikum, welches nicht durch die Kutikula, sondern nur von der Innenseite der Schnitte her eindringt, passiert erst das Parenchym, bis es an die Epidermis herankann, die Zellen der letzteren sind also weniger exponiert. Ihr Plasma wird trotzdem vielfach auch dort, wo die Schnitte mehrschichtig sind, viel rascher getötet als das der angrenzenden Parenchymzellen.

In Abb. 1 sind Zellen der Epidermis und des subepidermalen Grundgewebes skizziert. Der Schnitt wurde am 29. September um 16 Uhr bei 14° C auf eine *n*- $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung aufgelegt, die Tonoplastenplasmolyse in der Epidermis um 16.15 Uhr bis 16.30 Uhr, die normale Plasmolyse im subepidermalen Parenchym ab 16.35 Uhr gezeichnet. Im Parenchym ist in einer der wiedergegebenen Zellen sogar leichte Systrophe eingetreten. Das weist darauf hin, daß das Plasma anfangs noch intakt gewesen ist, also eine zur Schädigung ausreichende Menge Soda noch nicht durch das Plasmalemma gedrungen war. Meist fehlt im Sodaversuch allerdings die Systrophe, die ja nach Germ (1931) eine vitale Reaktion des Plasmas auf den Plasmolysereiz darstellt, und die Chloroplasten behalten ihre ursprüngliche Lage bei. Schindler (1938, S. 561) hat für *Allium* pathologische Plasmolysen abgebildet, wo das Zytoplasma einen breiten Saum bildet, der ringsum annähernd gleich



dick ist, im Gegensatz zur normalen Plasmolyse, wo vital-systrophische Verlagerungen fast immer ungleiche Dicke des Plasmawandschlauches zur Folge haben. — In der Epidermis herrscht „primäre Tonoplastenbildung“ vor; doch sind im vorliegenden Versuch in manchen Zellen die Plastiden und Plasmareste von dem sich osmotisch kontrahierenden Tonoplasten mitgenommen worden, was auf „sekundäre Tonoplastenbildung“ deutet. Schon de Vries hat ja in seinen „Plasmolytischen Untersuchungen über die Wand der Vakuole“ an *Spirogyra* die primär erfolgende alleinige Kontraktion des Tonoplasten, wobei Plasma und Plastiden getötet in ihrer wandständigen Lage verharren, unterschieden von den Fällen, wo anfänglich der ganze

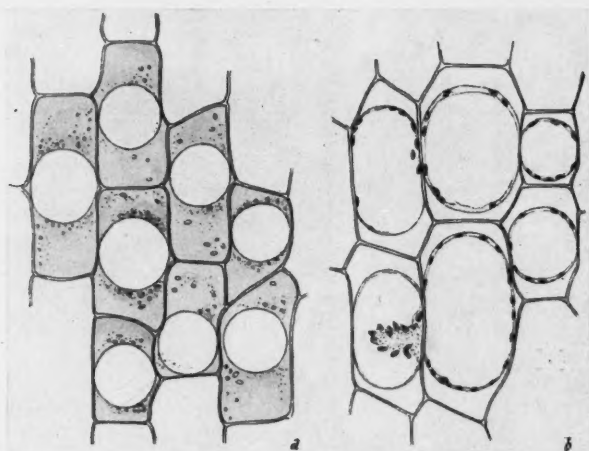


Abb. 1. *Rumex sanguineus*, Blattstiel, in  $n\text{Na}_2\text{CO}_3$ . a. Epidermiszellen zeigen „Tonoplastenplasmolyse“, b. Subepidermale Grundgewebszellen zeigen Plasmolyse. Vgl. Text.

Protoplast sich verkleinert und dann erst Plasma und Chromatophoren sekundär absterben. — An dickeren Flächenschnitten bzw. Schnittteilen fand ich an *Rumex*, wenn ich z. B. 15 Min. nach dem Einlegen untersuchte, z. T. noch normale Plasmolysebilder in Epidermis und Parenchym. Aber auch in solchen Fällen stirbt dann das Plasma der Epidermiszellen meist früher ab, wobei oft ein vorübergehendes Kappenplasmolysen-Stadium durchlaufen wird. Die Tonoplasten überdauern in ihrer ursprünglichen Größe, ohne ihr Volumen durch Aufnahme osmotisch wirksamer Salzlösungen merklich zu vergrößern.

Die Intrabilität der Epidermis für Soda ist größer als die Intrabilität der Protoplasten des Parenchyms.

2. *Polygonum bistorta*. Das Stengelparenchym des Blütenschaftes bietet besonders regelmäßig geformte zylindrische Zellen, die für plasmometrische Messungen geeignet sind. Die Epidermiszellen sind schmal und



langgestreckt.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung von 0,65 mol. bewirkt im Parenchym normale konvexe Plasmolyse, während sich in der Epidermis nur die überdauernden isolierten Tonoplasten, in viele kleine Einzelblasen zerfallend, kontrahieren.

3. *Melandryum rubrum*: In 0,8 mol.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  Tonoplastenplasmolyse in der Stengelepidermis, der Zellsaft verfärbt nach Gelb. Im Parenchym anfangs echte Plasmolyse; das Plasma stirbt dann, nach solcher sekundärer Freilegung der Vakuolenwandung wird der Zellsaft z. T. auch gelb.

4. *Pirola uniflora*: Flächenschnitte vom unteren Teil des Fruchtschaftes gaben in 0,8 mol.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in der Epidermis schöne konvexe Tonoplasten in Einzahl in jeder Zelle; sie sind nicht sehr dauerhaft, sind nach 45 Minuten nur z. T. noch erhalten. Hier auch im Parenchym Tonoplastenbildung.

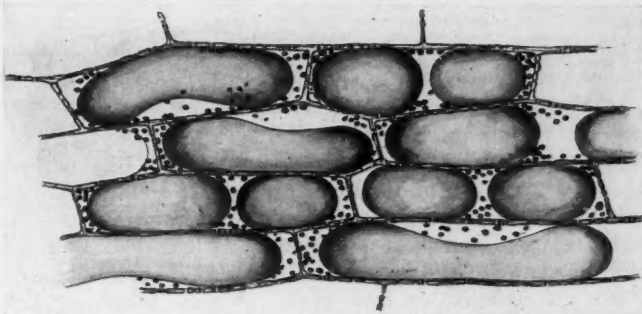


Abb. 2. *Helleborus niger*, Zellen der subepidermalen Parenchymschicht in  $n$  Soda. Tonoplastenplasmolyse.

5. *Helleborus niger*. Die Schnitte wurden teils von der Außenseite, teils von der rotgefleckten Innenseite des Stieles kräftiger Blätter hergestellt. Der osmotischer Wert der Zellen ist (im Spätsommer) hoch. Auch 0,8 mol  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  plasmolysiert schwächer als bei den übrigen Objekten. Die Schnitte waren z. T. einschichtig, z. T. mehrschichtig hergestellt; sie lassen sich von der Innenseite bequem beobachten, von der Außenseite erschweren die dicken Kutikularrippen die Sicht, doch ist die Beobachtung trotzdem möglich. An der Blattstiellinnenseite ist die Epidermis streifenweise dünnwandig und gut durchsichtig.

In den ersten Versuchen gab die Epidermis mit Soda überall schöne konvexe Tonoplasten. Tote Plasmareste erfüllen den Vorraum. Die überdauernden Vakuolen nehmen z. B. 0,80 vom Zellumen ein. — Im subepidermalen Parenchym, dessen Zellsäfte inselweise anthocyanhaltig, sonst farblos sind, war dagegen meist konvexe, normale Plasmolyse eingetreten. Doch wurden die Tonoplasten auch hier nach kurzer Zeit innen verschärft sichtbar. Mitunter waren die äußeren Plasmakonturen, zum Zeichen leichter Schädigung, nicht mehr gleichmäßig gerundet, die Tonoplasten innen aber konvex. In Randlagen des Schnittes bzw. in wundnahen Zellkomplexen war

vielfach auch im Parenchym schon primär Tonoplastenplasmolyse eingetreten. Solche zeigen die in Abb. 2 dargestellten Zellen. Gelegentlich ist trotz des schwachen Grades der Kontraktion der Tonoplast in zwei Stücke geteilt. Der gezeichnete Schnitt hatte am 29. September bei 14° C 1½ Stunden in Sodalösung gelegen. Die wandständige Lage der Chloroplasten zeigt, daß die Tonoplasten primär freigelegt worden waren.

Ich habe an diesem schönen Objekt nochmals die Frage untersucht, ob nur hypertonische Sodalösungen oder ob auch hypotonische das Plasmalemma der Epidermiszellen überrennen. Ein Reihenversuch wurde am 14. September in 0,8-, 0,7-... 0,3fach verdünnter Stammlösung (vgl. S. 430) angesetzt. In 1,0 und 0,8 zeigte die Epidermis nach 10–30 Min. schöne primäre, meist konvexe Tonoplasten, in 0,7 schwache Grenz-Tonoplastenplasmolyse oder keine solche mehr, von 0,6 abwärts aber keine osmotische Kontraktion. Alle Schnitte wurden nun in 1,0 mol. Traubenzucker gespült und in Schälchen mit dieser Lösung übertragen. Nirgends ließen die Epidermiszellen mehr Plasmolyse eintreten. Die Kontrollschnitte, welche direkt in 1,0 Traubenzucker gebracht worden waren, zeigten bei gleichzeitiger Untersuchung normale Plasmolyse und ebenso noch am folgenden Tag.

6. *Gymnadenia conopsea*. Flächenschnitte von der Blattunterseite der Orchidee wurden am 7. Sept. in Fläschchen mit 0,48 mol.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  gebracht und nach 12 Min. untersucht. Sie zeigten in der Epidermis im dünneren Schnittteil abgekugelte Tonoplasten (in dickeren Teilen, wo die Lösung schwer eindringt, streckenweise noch Plasmolyse). Im einschichtigen Teil der Schnitte zeigen auch die Schließzellen Tonoplasten, aber der Inhalt der Vakuolen ist hier unter dem Einfluß der Sodalösung tief gelb verfärbt! Der Inhalt der Epidermistonoplasten ist farblos. Die Beobachtung ist der Hervorhebung wert, denn in Vitalfärbungs- und Fluorochromierungsversuchen (vom Sommer 1945 und 1946) hatten die Schließzellen speicherstoffführende („volle“), die gewöhnlichen Epidermiszellen aber speicherstofffreie („leere“) Zellsäfte gezeigt (vgl. Höfler 1947, Stiegler 1950, Wiesner 1951). — Bei der Revision nach 50 Min. waren alle Zellen getötet und auch keine überdauernden Tonoplasten mehr zu sehen.

7.—10. Die Zellen der vier beobachteten Compositen verhielten sich unter sich ähnlich und abweichend von den übrigen Objekten.

7. *Taraxacum officinale*. Flächenschnitte vom rosa Stiel der grundständigen Blätter, teils einschichtig, teils zweischichtig, oder als „Stufenschnitte“ hergestellt und am 6. September in 0,65 mol.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  untersucht.

Nach 25 Min. zeigt die Epidermis sekundäre Tonoplasten, sie sind meist geteilt und sehen bei schwacher Vergrößerung fast wie intakte Protoplasten aus, die Chlorophyllkörner liegen aber überall außerhalb der Menisken. Nach 48–60 Min. zeigte der Schnitt die Randtonoplasten in anthocyanhaltigen Zellen unter der Wirkung der Soda schwarzgrau verfärbt. Das anthocyanfreie Parenchym zeigte auch im vielschichtigen Schnittteil kugelig-konvexe Tonoplasten mit gelb verfärbtem Zellsaft. Zerstreute Chlorophyllkörner weisen auf primäre Tonoplastenbildung.

Der Resistenzunterschied zwischen Epidermis und Parenchym ist hier schwächer ausgeprägt, fehlt aber nicht ganz.

Die Zellen sind plasmometrisch meßbar. Ich fand z. B. am 6. September ( $T = 18\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$ ) in 0,65 mol.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  nach einstündiger Sodaewirkung den Grad der Tonoplastenplasmolyse gleich 0,33, 0,275, 0,36.

Im Versuch waren alle isolierten Parenchymvakuolen nach Gelb, die Epidermiszellsäfte aber nach Schwarzgrau verfärbt. Es gelang hier erstmalig, eine gewisse Rückdehnung der Tonoplasten in Soda nachzuweisen.

Eingelegt am 6. September um 11.19 Uhr in 0,65 mol  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

Zelle 1 12.17 Uhr (19–33,1) : 39      12.42 Uhr (20–33,7) : 39

Zelle 2 12.18 Uhr (5–22,1) : 38      12.43 Uhr (0–18,9) : 38

Der Plasmolysegrad hat sich in 25 Min. um 0,041 bzw. um 0,0474 geändert. Das entspräche einer Aufnahme von 0,029 mol Soda. Doch ist die Interpretation solcher  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Versuche nicht so einfach. Ich kann darauf hier nicht eingehen.

8. *Sonchus oleraceus*. Flächenschnitte vom roten Stengel, in 0,5 mol Soda am 14. September orientierend untersucht. Nach 30 Min. zeigen Epidermiszellen Krampfplasmolyse, keine Tonoplasten und blaugrün verfärbtes Anthocyan. Sie scheinen stark permeabel zu sein, doch ist das Plasma wohl sicher geschädigt. In einem anderen Schnitt sind noch nach einer Stunde normal plasmolysierte Zellen rot, hingegen sowohl überdauernde isolierte Tonoplasten als krampfplasmolysierte geschädigte Zellen blau.<sup>2</sup>

9 Flächenschnitte der Blattstiele von *Tussilago farfara* verhielten sich ähnlich.

10. An *Homogyne alpina* wurden die sternförmigen Epidermiszellen an Flächenschnitten von der Blattunterseite untersucht. Sie lieferten in 0,65 mol  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  schöne Tonoplasten von mäßig schwachem Grad. Die Plastiden waren in ihrer wandständigen Lage verblieben, es lag also primäre Tonoplastenbildung vor. — Rote Stengelhautzellen reagierten etwa wie die früher besprochenen Kompositenzellen. Nach zweistündiger Wässerung war das Bild nach 12 Min. Sodaplasmolyse etwas besser; meist gab es auch schon Tonoplasten mit bläulich-roten Zellsäften, die sich weiter binnen 10 Min. zusehends stärker blau verfärbten. Anfangs hatten manche Zellen zumal am Schnitttrand normale Plasmolysen mit unverfärbt roten Zellsäften.

11. *Majanthemum bifolium*, ein in früheren Jahren (1930, 1934) von mir viel studiertes Objekt, wurde orientierend in 1,0 *n*  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  untersucht. Ein ohne Wässerung ins Plasmolytikum gebrachter Schnitt zeigte, nach 20 Min. geprüft, in den gestreckten Epidermiszellen viel geteilte Tonoplasten, auch in der subepidermalen Parenchymschicht größtenteils isolierte Tonoplasten, daneben einige normal plasmolysierte Protoplasten. In einer Zelle mit geteiltem, intaktem Protoplasten war z. B. der Plasmolysegrad 0,75, in einer benachbarten erfüllten die zwei geteilten Tonoplasten 0,68 vom Zellraum.

<sup>2</sup> Bei *Taraxacum* und *Sonchus* ist die Innenseite von Schnitten, die, ohne mit Wasser in Berührung zu kommen, in die Sodalösung eingebracht werden, von dichtem Niederschlag bedeckt. Er entsteht wohl mit Ca-haltigen Verbindungen der angeschnittenen Zellsäfte. Molisch (1916, vgl. 1923, S. 50) hat zum Calcium-Nachweis u. a. konz. Sodalösung verwendet, er erhält damit kristallinische Fällungen aus Kalk-Natronkarbonat (Gaylussit-Kriställchen).

Ein anderer Schnitt wurde hier — aus Gründen der Vergleichbarkeit mit meinen älteren Versuchen in Neutralsalzlösungen — ausnahmsweise vor der Plasmolyse 2 Stunden in dest.  $H_2O$  gewässert, sodann um 14.15 Uhr ins Fläschchen mit  $n Na_2CO_3$  gebracht und nach 22 Minuten untersucht. Der Schnitt lebt, ist perfekt konvex plasmolysiert und zeigt teilweise Protoplasten, teilweise Tonoplasten. Der Hundertsatz der intakten Protoplasten ist aber bedeutend größer als an einem ungewässerten Kontrollschnitt. Das Wässern erleichtert die Plasmalösung und damit — vgl. Weber (1931) — die Plasmolyseresistenz. Die folgende messende Beobachtung ist von Interesse. Die Protoplasten zeigen perfekte Systrophe, woraus wohl hervorgeht, daß schädigende Sodalösung anfangs noch nicht in nennenswerter Menge ins Plasma intrameiert ist, daß das Plasmalemma also dicht gehalten hat. Auch die Zellsäfte zeigten noch rein rote Farbe. — Nachher erfolgte Kappenbildung und schließlich nach dem Tode des verquollenen Plasmas (vgl. die Abbildung bei Germ 1932, S. 587) Freilegung der Vakuolenwandungen, also ein „sekundäres Tonoplastenstadium“. Auch in diesem Stadium verblieben die Zellsäfte zunächst noch rein rot. „Primär“ freigelegte Tonoplasten zeigten daneben zur gleichen Zeit schon blaurote Verfärbung. Die primär isolierten Tonoplasten am Schnitttrand waren rein blau. Die Farbenkontraste sind in diesem Stadium sehr auffällig.

Das im folgenden wiedergegebene Protokoll berichtet über den zeitlichen Verlaufsverlauf

*Majanthemum bifolium*, subepidermale, anthocyanführende Parenchymzellen vom Stengelgrund. Schnitt zwei Stunden gewässert, seit 14.15 Uhr, in  $n Na_2CO_3$ . 14. September 1950.

Zelle 1	Zelle 2
14.41 Uhr Protoplast intakt 8—53:62, $b = 6,3$ , $G = 0,692$	14.42 Uhr desgl., systrophisiertes Plasma aufgequollen
14.47 Uhr jetzt Plasma innen gequollen Zellsaft aber noch rot (4—25) + (36—53,5):62 $G_p = 0,553$	14.48 Uhr unverändert, Zellsaft rein rot 14.56 Uhr rot, Tonoplastenkonturen gegen das gequollene Plasma auch innen scharf (25—28) + (43—60,2):67 $G_p = 0,566$
14.53 Uhr im wesentlichen unverändert (3—24,5) + (36,5—53,5):62 $G_p = 0,553$	
14.50 Uhr Zellsäfte primärer Tonoplasten blaurot, die sekundärer (aus normal plasmolysierten Zellen durch Verquellung des Systrophe-Klumpens freigelegter) reinrot.	
15.00 Uhr Alle Tonoplasten blau; wenige rote Protoplasten mehr vorhanden (etwa 10 unter 200 Zellen).	
Die Messung zeigt, daß die isolierten Tonoplasten für Soda (Moleküle des Salzes oder der NaOH-Base?) durchlässig sind.	
Typisch blaue, innen im Präparat gelegene Tonoplasten zeigten Rückdehnung.	
15.01 Uhr (3—33,2) + (42,8—72):77 $G_p = 0,701$ ( $b = 8,1$ )	
15.06 Uhr (1,8—34) + (41,8—72,8):77 $G_p = 0,751$	
Daraus berechnet sich eine Aufnahme von 0,05 $n$ Soda in 5 Minuten.	

15.16 Uhr Die Tonoplasten sind geplatzt, nur ca. 10% der blauen Tonoplasten sind noch erhalten, keine roten Protoplasten oder Tonoplasten sind mehr vorhanden.

Der Versuch ist wohl so zu interpretieren: Im ersten Stadium der Soda-einwirkung ist das Plasmalemma undurchlässig (nach Plasmolyse systrophische Verlagerung des Plasmas!). Im zweiten Stadium ist die Intrabilität erhöht (Kappenplasmolyse bzw. Aufquellung des innen gelegenen Systropheklumpens), aber der Tonoplast ist noch undurchlässig. Im dritten Stadium wird der isolierte Tonoplast permeabel (Verfärbung des Zellsaftes von Rot nach Blau).

12. *Gentiana Sturmi*ana. Die durch ihre hohe Harnstoffpermeabilität bekannten Zellen der Stengelepidermis wurden orientierend in Soda untersucht. Flächenschnitte kamen teils ungewässert, teils nach kurzer Wässerung in  $n\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Die ersteren zeigten, nach 7 Min. dem Fläschchen entnommen, normale Plasmolyse; die Protoplaste waren meist geteilt, konvex gerundet, mit Plasmalemmasträngen verbunden, an denen die Protoplastatropfen perlchnurartig aufgereiht waren. Das Bild ist bekannt und entspricht dem bei Plowe (1931, S. 204) mikrochirurgisch erzielten.

$T = 13^\circ\text{C}$

Ramsau, 24. September 1950

Ein gemessener Doppelprotoplast zeigt keine Rückdehnung, sondern verkleinerte sich noch ein wenig und blieb bis 19 Min. nach Versuchsbeginn intakt. 1: h mißt

nach 9 Min.:	8—26	— 37—61,3	: 71
„ 11 Min.:	8—25,9	— 37—61	
„ 13 Min.:	8—25,9	— 39—60,8	
„ 19 Min.:	8—25,5	— 39—61	

Nach 14½ Min. zeigte etwa ein Viertel der Zellen sekundär freigelegte Tonoplasten, drei Viertel noch normale Plasmolyse. Die Zellsäfte waren da wie dort noch rein lila rot! Nach 20 bis 22 Min. befanden sich etwa die Hälfte bis zwei Drittel der Zellen im sekundären Tonoplastenstadium, aber die Zellsäfte waren noch rot. Nach 30 bis 32 Min. gab es im einschichtigen Schnittteil 90% sekundäre Tonoplasten, die Zellsäfte waren noch ziemlich gut rot, jetzt leicht nach violett verfärbt. Die Tonoplasten in wundnahen Zellen am Schnitttrand waren tief blau, so daß der Schnitt ein farbenbuntes Bild bot. Nach 34 Min. zeigte auch der mehrschichtige Schnittteil in der Epidermis allgemein Tonoplasten mit lilaroten bis blauroten Zellsäften.

Ein anderer Schnitt zeigte nach 14 Min. in  $n\text{Na}_2\text{CO}_3$  vom Schnitttrand abgesehen, durchwegs normale Plasmolyse, keine Tonoplasten. 22 Min. später sah man im dünnen und dicken Schnittteil allgemein konvexe, vielfach zerteilte Tonoplasten, doch waren die Zellsäfte noch rein rosa (Schattenpflanze!), nicht blau. Einzelne Teiltonoplasten fehlen bereits und hinterlassen in langgestreckten Zellen Lücken.

Die ungleichartige Durchlässigkeit (Ionenpermeabilität?) der am Wundrand primär und der in der Schnittfläche sekundär freigelegten Tonoplasten, die sich im Farbunterschied blau — rot kundgibt, stellt ein Problem dar, das weiter zu verfolgen sein wird.

Danach lassen die Zellen der Stengelepidermis von *Gentiana Sturmi*ana im Sodaversuch ein deutliches Plasmalemma erkennen, welches der Soda-lösung eine Zeitlang — im mitgeteilten Versuch durchschnittlich 20 Minuten — den Eintritt in den Protoplasten verwehrt.



Zusammenfassend darf festgehalten werden: Die geprüften Gewebszellen ergeben bei Einwirkung hypertotonischer  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung entweder primär Tonoplastenplasmolyse oder zunächst eine Plasmolyse von normalem Aussehen. Die Protoplasten sterben dann aber meist binnen einer viertel, einer halben, einer Stunde (oder weniger) entweder ganz oder bis auf die Vakuolenhäute ab. Im letzten Fall wird oft ein Stadium der Plasmaaufquellung (Kappenplasmolyse) durchlaufen, es folgt ein sekundäres Tonoplastenstadium.

## II. Desmidiaceen

Gleichlaufend mit den angeführten Versuchen an Gewebszellen von Angiospermen habe ich im September 1950 Algen untersucht, die in der Ramsau in reichster Artenauswahl zur Verfügung standen. Ich hatte das Plasmolyseverhalten von Algen gegen  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  vorher nie geprüft.

Ich war nun in hohem Maße überrascht, als schon meine ersten Versuche erkennen ließen, daß viele Algen in der Sodalösung eine echte, vitale und recht dauerfähige Plasmolyse erfahren.

Auch Fadenalgen, wie *Zygnema*, *Mougeotia*, *Oedogonium*, *Microspora*, lassen sich in  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  normal plasmolisieren, aber die Lebensdauer der Protoplasten ist sodann beschränkt. Viele Desmidiaceen aber zeigen eine völlig normale Plasmolyse, welche der in Zuckerlösung bewirkten durchaus ähnlich sieht, und etliche Arten erhalten in der hypertotonischen  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung ihre Protoplasten stunden-, ja tagelang intakt.

Die ersten Versuche wurden so angestellt, daß ich Flocken des Algenmaterials auf dem Objektträger aufbreitete, mit Fließpapier vom überflüssigen Wasser befreite, dann rasch einige Tropfen 0,7 n oder 0,8 n Sodalösung aufsetzte, die Algenmasse verrührte und nach etwa 1 Minute mit großem Deckglas bedeckte. Bald nachher begann die mikroskopische Beobachtung.

Die Mehrzahl der Zieralgen gab eine schöne, normale, konvex gerundete Plasmolyse. Ich stellte eine solche u. a. fest bei *Cylindrocystis Brebissonii* Menegh., *Netrium digitus* Lütke., *Netrium oblongum* Lütke., *Pleurotaenium trabecula* var. *rectum* Delp., *Tetmemorus granulatus* Ralfs, *T. Brebissonii* Ralfs, *Euastrum oblongum* Ralfs, *E. ansatum* Ralfs, *E. affine* Ralfs, *E. bidentatum* Näg., *Micrasterias pinnatifida* Ralfs, *M. truncata* Bréb., *M. crenata* Bréb., *M. rotata* Ralfs, *M. denticulata* Bréb., *Cosmarium pachydermum* Lund., *C. pyramidatum* Bréb., *C. pseudopyramidatum* Lund., *C. connatum* Bréb., *C. cucurbita* Bréb., *C. Portianum* Arch., *C. amoenum* Bréb., *Xanthidium armatum* Rabenh., *X. antilopaeum* Kütz., *X. fasciculatum* Ehrenb., *Arthrodesmus incus* Hass., *A. convergens* Ehrenb., *Staurostrum furcatum* Bréb., *St. teliferum* Ralfs, *St. Hemerlianum* Lütke., *Gymnozyga Brebissonii* Wille, *Hyalotheca dissiliens* Bréb., *Desmidium Swartzii* Ag., *D. quadratum* Nordst.

Bei *Pleurotaenium nodulosum* West blieb in mehreren Versuchen etwa die Hälfte der Zellen am Leben, die Hälfte wurde durch die Einwirkung der hypertotonischen Sodalösung primär getötet. Eine Minderzahl der geprüften Arten vertrug die  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Behandlung nicht, so *Closterium lunula*, *Closterium didymotocum*, *Netrium interruptum*.



Bei länger dauernder Plasmolyse waren störende Versuchsfehler zu vermeiden, wie sie durch O-Mangel, durch Eintrocknen der Präparate, durch Verdünnung der Lösung infolge Wasserdampfaufnahme beim Aufbewahren in feuchter Kammer gegeben sind. Ich stellte daher die Hauptversuche folgendermaßen an. 5 cm<sup>3</sup> des zu verwendenden Algenmaterials wurden mit-samt dem Standortswasser in ein Glasstoppefläschchen einpipettiert und 5 cm<sup>3</sup> einer  $n\text{-Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung langsam zugesetzt. Die Algen kommen auf diese Weise in eine 0,5  $n$ -Sodalösung, die zur Hälfte mit Moorwasser verdünnt war, zu liegen. Die feste Masse der lockeren Algenproben wird vernachlässigt. Das Salz wird nicht in chemisch reiner Form geboten; vielleicht werden auch schädigende Wirkungen reiner Alkalisalzlösung dadurch ausgeschaltet, während gewiß nur ein minimaler Bruchteil vom  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  durch etwaige chemische Bindung mit Komponenten des Hochmoorwassers verlorengeht. Niederschlagsbildung wurde beim Moorwasser nicht wahrgenommen, wogegen sich kalkhaltiges Wasser beim gleichen Vorgang naturgemäß trübt. — Dem Vorrat plasmolysierten Algenmaterials können dann die zu untersuchenden Präparate nach verschieden langer Einwirkungs-dauer entnommen werden.

*Euastrum oblongum* (Abb. 3a). Alle Zellen vertragen die Sodaplasmolyse. Die Protoplastensäume in allen Lappen der Zellen nehmen glatt konvexe Rundung an. Der Plasmolysegrad war in den Zellen meiner Materialien stark verschieden. Auch nach 24, nach 48 und nach 72 Stunden fand ich praktisch noch alle Zellen am Leben. Die Art erscheint als eine der resistentesten. An einem Material aus RT<sup>2a</sup>, das seit 24 Stunden in 0,7  $n$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  verweilt hatte und unverminderten Plasmolysegrad aufwies, nahm ich Aussüßungsversuche vor. Am 12. September um 12 Uhr wurde 0,5  $n$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und 5 Min. später 0,5  $n$  langsam durch das Präparat gesaugt. Die *Euastrum*-Protoplasten dehnten sich normal wieder aus. Um 12.15 Uhr wurde ein Tropfen Moorwasser am Deckglasrande zugesetzt. Die näher gelegenen Individuen dehnten sich stärker aus und platzten, weiter innen im Präparat erfolgt die Verdünnung langsam, hier erfuhren die Protoplasten eine normale Deplasmolyse, wobei die Konturen scharf blieben und die Protoplasten sich bis an die einspringenden Leisten am Zellpol rückdehnten; die Chloroplasten blieben wie bei Deplasmolyseversuchen in anderen Reagenzien in der Ausdehnung zurück. *Euastrum oblongum* verträgt also nach der Dauerplasmolyse in Sodalösung auch noch das Aussüßen, reagiert mit normaler Rückdehnung und erweist sich damit als weitgehend intakt. — In wiederholten Versuchen fand ich die Art auch nach dreitägiger Sodabehandlung normal plasmolysiert.

*Xanthidium armatum*. Die Mehrzahl der Zellen verträgt die Plasmolyse und verträgt die Deplasmolyse nach 24 Stunden. Lebende Zellen finden sich in der hypertонischen Lösung noch nach drei Tagen. *Xanthidium antiopaeum* (Abb. 3b) und *X. cristatum* verhielten sich ähnlich.

<sup>2a</sup> RT = Ramsauer Torfmoor, vgl. Höfler und Schindler 1951, S. 139.

*Arthrodesmus convergens* fand sich zumindest nach kürzerer Dauer noch stets normal und konvex plasmolysiert. Abb. 3e zeigt eine drei Tage lang mit 0,5n Soda behandelte Zelle, bei der der Protoplast lebend und normal konturiert ist und bloß die Chromatophoren innen ein wenig aus der Ordnung gebracht sind.

*Micrasterias rotata*, die zu zellphysiologischen Versuchen viel verwendet wird (Warén, Eibl u. a.) und dank ihrer Zellform einwirkenden Agenzien eine große Oberfläche bietet, verträgt gleichwohl die Sodaplasmolyse durchwegs. In allen Fortsätzen zeigen die freigelegten Plasmamenisken schönste Rundung. Die Lebensdauer erscheint allerdings im Vergleich zu den früheren Arten beschränkt. Auch *M. pinnatifida* ist recht resistent und lebte in einigen Versuchen noch nach drei Tagen.

Von größeren Cosmarien stand *Cosmarium connatum* (Abb. 3d) aus RT reichlich zur Verfügung. Die Zellen zeigten gute Resistenz und waren nach 24 Stunden deplasmolysierbar.

*Cosmarium pseudopyramidatum* (Abb. 3c) (aus RMK, dem „Schwaigermoos“) erwies sich in wiederholten Versuchen als die gegen  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  resistenteste Art in ihrer Algengesellschaft. Auch wenn nach drei, nach vier und mehr Tagen alle anderen Algen der artenreichen Mischproben in der Sodalösung schon abgestorben waren, zeigten sich alle *pseudopyramidatum*-Individuen noch lebend und schön konvex plasmolysiert. Auch der Plasmolysegrad war etwa der gleiche geblieben wie am ersten Tag.

Von den fadenförmigen Desmidiaceen war *Gymnozyga Brebissonii* recht gut resistent, wenngleich ein Teil der Zellen in vielen Fäden nach einigen Tagen nekrotisch oder geschädigt erschien. *Hyalotheca dissiliens* vertrug anfangs die Plasmolyse gut, war aber nach zwei Tagen meist tot. *Desmidium Swartzii* zeigte nach einigen Stunden und auch noch nach einem Tag schöne querovale Plasmolyse, nach drei Tagen fanden sich nur in einzelnen Zellen der Fäden lebende Protoplasten. *Desmidium cylindricum* (aus RT) wurde nur nach kürzerer Einwirkung beobachtet und da lebend befunden.

Die Versuche mit Desmidiaceen konnten im Oktober und November in Wien an mitgebrachtem Algenmaterial, das sorgsam gepflegt wurde, wiederholt und in manchem ergänzt werden.

*Cosmarium amoenum* fand sich in einem Schlenkenmaterial aus dem Ramsauer Schwaigermoos in lebhafter Teilung. Die Probe wurde vier Tage nach der Rückkehr, am 4. Oktober in Wien untersucht. Setzte ich dem Präparat eine 0,5n Sodalösung zu, so trat schöne, konvexe Plasmolyse ein. In jung geteilten Zellpaaren erfolgt sie in den inneren, jüngeren Zellhälften (Abb. 4), indes die älteren zunächst unplasmolysiert bleiben. Die Skizze in Abb. 4 ist 8–12 Minuten nach Lösungszusatz aufgenommen. Es ist wohl bei *C. amoenum* der Zellwandwiderstand limitierend für den Plasmolyseeintritt. Die Membranen der jungen Zellhälften lassen, wie es scheint, die Lösung leichter hindurchtreten. 22 Min. nach Versuchsbeginn sind auch die Halb-

protoplasten außen ringsum leicht abgehoben, dafür sind die Halbprotoplasten innen etwas größer geworden, was sich aus der Wirkung von Oberflächenkräften leicht verstehen läßt.

*Penium minutum* im gleichen Material läßt eine anfangs konkav-vielbuchtige Plasmolyse eintreten, dabei bleiben alle Zellen am Leben.

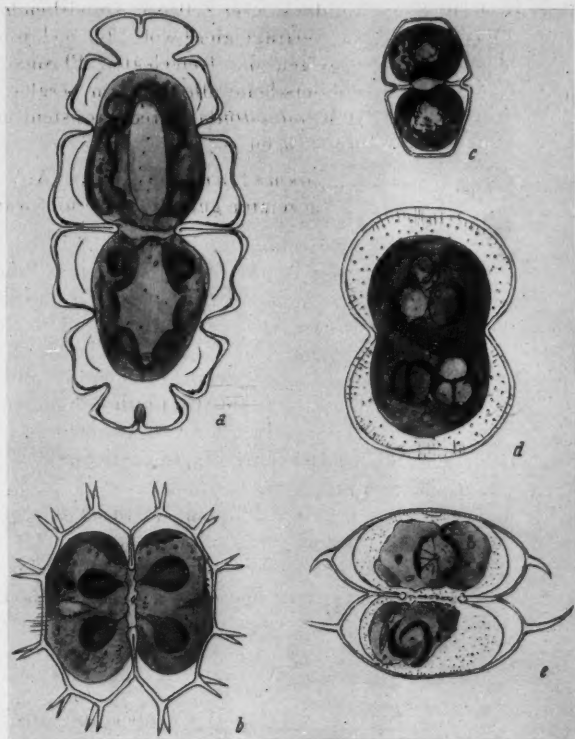


Abb. 5. Desmidiaceen, 3 Tage lang (26.—29. September) in  $0,5\text{ n Na}_2\text{CO}_3$ . Die Zellen leben und zeigen normale Plasmolyse. a. *Euastrum oblongum*, b. *Xanthidium antiopaeum*, c. *Cosmarium pseudopyramidatum*, d. *Cosmarium connatum*, e. *Arthrodesmus convergens*.

Aus einer späteren Versuchsreihe vom 2. November sei das Verhalten von *Cosmarium cucurbita* erwähnt. Die Alge dominiert in der untersuchten Mischprobe aus einer Schlenke in RMK. Sie blieb in  $0,5\text{ n}$  Soda unplasmolysiert, im Gegensatz zu allen anderen Desmidiaceen des Materials. Die Zellen sahen aber lebend aus. In der Tat ließ sich beim Durchsaugen stärkerer,  $1,0$  normaler Sodalösung eine normale (konvexe oder etwas eckig oder flach und schräg konturierte) Plasmolyse erzielen. Die Art hatte also nur einen höheren

osmotischen Wert. Alle Zellen ertrugen den nachträglichen Plasmolyseeintritt. *Cosmarium Portianum*, *pseudopyramidatum*, *connatum*, *magaritiferrum*, *Micrasterias truncata*, *Cylindrocystis Brebissonii* waren bereits in 0,5 n Soda konvex plasmolysiert gewesen und zeigten nach dem Durchsaugen verstärkten Plasmolysegrad unter Wahrung der konvexen bzw. kugeligen Form.

Über osmotische Werte der Desmidiaceen lagen bis in die jüngste Zeit planmäßige Untersuchungen noch nicht vor. Frl. I. Krebs hat 1949/51 solche Messungen auf breiter Grundlage angestellt. Die meisten Arten der Desmidiaceen sind ziemlich stenotisch, d. h. sie halten ihre Werte in engen Grenzen. *Cosmarium cucurbita* hat nach Krebs nicht nur öfters den höchsten osmotischen Wert in der betreffenden Desmidiaceen-Gesellschaft, sondern es zeigt (auch im Sommer) Schwankungen des Grenzplasmolysewertes von 0,5 bis 0,7 mol. Traubenzucker und damit die größte von Krebs beobachtete Amplitude überhaupt.

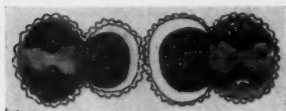


Abb. 4. *Cosmarium amoenum* in Teilung, seit 8 Min. in 0,5 n  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  plasmolysiert. 4. Oktober 1950.

Zu Ende Oktober erhielt ich frisches Desmidiaceen-Material, das meine Schüler, die Herren cand. phil. W. Loub und K. Hilmbauer von einer großen viertägigen Exkursion aus dem Teichl-Moos unweit Windischgarsten in Oberösterreich eingebracht hatten. Bei Soda-Versuchen vom 2. und 5. November wurden frühere Erfahrungen

von den Materialien anderer Herkunft bestätigt. Bemerkenswert war das Verhalten von *Tetmemorus granulatus*. Die Alge zeigt in indifferenten Plasmolyticis stets negative Plasmolyseorte an den Membraneinfaltungen der Zellpole und oft auch solche am Zellisthmus. Das hat schon Klebs (1886, S. 386) beobachtet; das Verhalten wurde von Cholnoky und Höfler (1950) an Algenmaterial aus dem Fichtelgebirge und nun von mir oftmals an Ramsauer Materialien bestätigt, ebenso wieder in Traubenzucker-Versuchen an der neuen Algenprobe. In 0,5 n  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  zeigt *Tetmemorus* eine gute, konvexe Plasmolyse, aber die negativen Plasmolyseorte an den Zellpolen fehlten. Schon bei der Beobachtung nach 10 bis 20 Min. wiesen alle Zellen eine kugelkonvexe Plasmolyse auf, eine Stunde später lebten alle und zeigten perfekte Endplasmolyse ohne Haftpunkte. Der Grad der Plasmolyse war gleichmäßig, es lagen z. B. in einer 100  $\mu$  langen Zelle die Protoplastenmenisken bei 27  $\mu$  und 66  $\mu$ .

*Cosmarium pseudopyramidatum* plasmolysierte so schön konvex wie im Ramsauer Material; *Micrasterias crenata* verhielt sich ähnlich wie *truncata*, es zeigte scharfe Plasmalemma-Konturen, doch hatten die Protoplasten im herbstlichen Material noch nach  $\frac{3}{4}$  Stunden im Umriß die Zellformen annähernd erhalten, die Rundung war also verzögert. *Closterium striolatum* war jetzt allgemein tot. *Roya obtusa*, die in der Ramsau nicht vorgelegen hatte, wird durch die Soda getötet. *Cylindrocystis Brebissonii* lebt durchwegs und zeigt, wie in anderen Plasmolyticis, mathematisch halbkugelige Plasmamenisken.

Die Resistenz der Desmidiaceen gegen Sodalösung ist von Art zu Art abgestuft, aber im ganzen doch groß. Für mehrere Arten hat sich eine ganz enorme Resistenz nachweisen lassen.

Der Befund muß wohl so gedeutet werden, daß die äußere Plasmagrenzschicht, das Plasmalemma der Algen, so undurchlässig ist, daß die zur Plasmolyse gebotene Sodalösung nicht bis ins Binnenplasma eindringen kann. Denn auch nach mehrtägiger Einwirkung finden sich keine der Kaptenplasmolyse ähnlichen Nekrosebilder, keine Aufquellung des Binnenplasmas, wie sie für Gewebszellen beschrieben wurde. Die Sodalösung scheint in dieses nicht eingedrungen zu sein; denn es ist unwahrscheinlich, daß es ein Zytoplasma gäbe, welches bei Berührung mit so konzentrierter Sodalösung lebensfähig wäre.

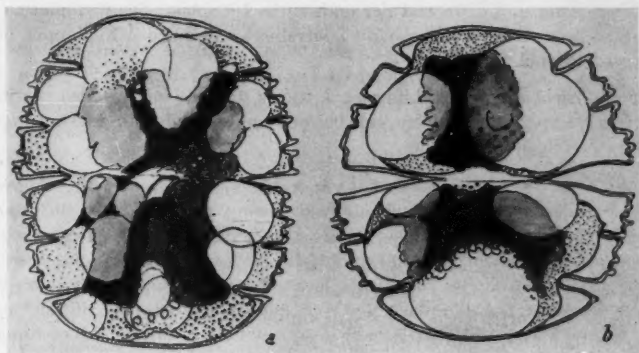


Abb. 5. *Micrasterias truncata*, 3 Tage (26.—29. September) in 0,5 n Soda plasmolysiert. Nekroseformen. Vgl. Text.

Beobachtet man den Eintritt der Plasmolyse bei den gut resistenten Formen, so sieht man den Protoplasten sich von der Zellwand glatt und, wie es scheint, ohne Ausbildung Hechtscher Fäden lösen. Gleiches gilt für die Plasmolyse in Zucker. Die Außenkontur des Protoplasten erscheint als eine scharf gezeichnete, optisch dunkle, ja schwärzliche Linie, die man — mit allem Vorbehalt — als sichtbares Plasmalemma anzusprechen geneigt wäre.

In guter Ausprägung sah ich ein solches auch bei *Micrasterias truncata* (Abb. 5). Die erste Sodaplastmolyse wird von den Zellen dieser Art ausnahmslos ertragen. Stellt man aber Dauerversuche an, so ist nach dreitägigem Aufenthalt in 0,5 n Soda nur ein Teil der Zellen noch normal plasmolysiert, die Mehrzahl aber nekrotisch. Manchmal zeigen sich innerhalb der Protoplasten deutliche Tonoplastenblasen, vielfach sind diese schon ausgetreten. Die Tonoplasten sind prallkonvex, stark lichtbrechend und als optisch helle Linien sichtbar wie bei anderen Zellobjekten. Unter den nekrotischen Zellen finden sich nun solche, wo das Plasma in Koagulation begriffen, die Chloroplasten noch rein grün sind: eine oder mehrere pralle Tonoplastenblasen sind durch die gesprengte Lage des Plasmalemmas nach außen gedrängt.



Besonders instruktiv zur Frage nach der Existenz morphologisch unterscheidbarer Plasmahautschichten sind Fälle wie der in Abb. 5b wiedergegebene. Die Algen hatten vom 26. bis 29. September bei gleichmäßig niedriger Temperatur ( $T$  um 12 bis 14°) in 0,5 *n* Sodalösung verweilt. Ein Mosaik aus Plasmalemma und Tonoplasten umsäumt den Protoplasten. Das Plasmalemma erscheint schwärzlich, die Tonoplasten licht. — In einem anderen Zellindividuum hat in einer Halbzelle nur mehr ein großer ausgetretener Tonoplast überdauert, in der anderen ist noch die schwärzliche Plasmalemma-Kontur erhalten, daneben tritt eine kugelige Tonoplastenblase aus: diese austretende Blase mißt  $34 \times 38 \mu$ , jener Tonoplast  $47\frac{1}{2} \times 34 \mu$ . — Unweit von den gezeichneten liegt eine andere *M.-truncata*-Zelle mit noch völlig intaktem plasmolysiertem Protoplasten. Dieser erscheint ringsum schwarz gesäumt. Das „Plasmalemma“ ist als dunkler, stark lichtbrechender Saum ausgebildet. Schon mit gutem Trockensystem (Zeiß Fluoritobjektiv 60 $\times$  und periplanatischem Okular 15 $\times$ ) sieht man das Plasmalemma dem Zellscheitel innen anliegen, darunter folgt ein Cytoplasmasaum und dann erst der noch zarte Tonoplast; das Cytoplasma ist gut sichtbar, weil die Chloroplasten leicht kontrahiert und aus den Endlappen der Zelle zurückgezogen sind.

Die beschriebenen Nekrosebilder sind, wie es scheint, einigermaßen spezifisch für *Micrasterias truncata*; sie finden sich bei den anderen von mir in Dauerversuchen geprüften Zieralgen nicht wieder.

Auch *Pleurotaenium nodulosum* verhält sich anders wie die übrigen Arten. Beim Eintritt der Sodaplasmolysie bleibt, wie eingangs erwähnt, meist ein Teil der Zellen am Leben, ein Teil wird primär getötet. Die Zahlenverhältnisse liegen ungleich in verschiedenen Materialien. Hat ein Protoplast den Plasmolyseeintritt gut überstanden, so erhält er sich dann in der Sodalösung meist lange am Leben. Schon in der Ramsau hatte ich an dieser Art, die plasmometrisch gut meßbar ist, eine Rückdehnung der konvex plasmolysierten Protoplaste in unverdünnter Sodalösung beobachtet (z. B. von  $G = 0,77$  auf  $G = 0,83$  von der 20. zur 50. Minute). — Wie in den Ramsauer Versuchen, so war auch in einem Wiener Versuch (2. bis 5. November) nach drei Tagen etwa die Hälfte der Zellindividuen lebend und kugelkonvex plasmolysiert, die Hälfte tot. Die Temperatur im Versuchsraum war jetzt ungleichmäßig (um 18° C am 2. November abends, dann zwei Tage kühl, am 5. November wieder 16½° C). Es hängt möglicherweise damit zusammen, daß sich die lebenden Protoplasten wieder ausgedehnt hatten, u. zw. zum Teil stärker, zum Teil schwächer. Einzelne lebende Zellen waren deplasmolysiert; sie hatten die Endvakuole mit schönen, parallel liegenden, säulenförmigen Gipskriställchen und auch das Plasmawabenwerk im Inneren (vgl. Höfler 1942) völlig erhalten. Doch waren die Wabenkammern z. T. eckig, z. T. aber abgekugelt und dabei ungleich groß. An einer anderen, jetzt leicht geschädigten Zelle war die Endvakuole  $12 \mu$  weit vom Zellende abgerückt und dieser Raum von gekörnt aussehendem Plasma erfüllt, während die Schaumvakuolen innen noch intakt waren. Mehrere andere Zellen befanden sich wirklich im Tonoplasten-Stadium; in einer liegt eine große, schiefkugelige Tonoplastenblase zwischen der Querwand und der Endvakuole, letztere hat überdauert, ist  $23 \mu$  breit und zeigt intakte Kriställchen im Inneren, ist also im isolierten Zustand wohl noch ziemlich gut semipermeabel gegenüber der Sodalösung. Ähnliche Bilder begegneten öfters. Dem Tonoplastenstadium anderer Zellsorten entspricht bei den Arten mit wabig gekamertem Plasma die Abkuglung der frei gewordenen Wabenkammern.

Es handelt sich auch bei *Pleurotaenium* um eine Algengattung mit deutlich spezifischer Zellorganisation.



### III. Andere Algen

Von der Mehrzahl der Algen, die ich in meine Versuche einbezog, wird die erste Plasmolyse in hypertonsicher Sodalösung ertragen. Es scheint also ein ausreichend differenziertes Plasmalemma vorhanden zu sein, das von der Sodalösung nicht primär überrannt wird. Doch habe ich bisher außerhalb der Desmidiaceen keine Formen gefunden, die eine mehrtägige Plasmolyse in Soda gleich gut vertragen hätten.

#### A. Zygnemales

*Zygnema* RT und *Zygnema* sp. aus dem Ramsauer Torfmoor wurden in vielen Versuchen neben den anderen Arten her beobachtet. — *Zygnema* RT (vgl. Huber und Höfler 1950, S. 387, Höfler und Schindler 1950), das zwar bisher nicht bestimmt werden konnte, aber sicher wieder zu erkennen ist, läßt in 0,5 n  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ziemlich rasch eine gute, konvexe Plasmolyse eintreten, die hier von allen Zellen der Fäden ertragen wird. Die Lebensdauer ist dann aber nicht lang. Die Soda dringt demnach wohl bald in einer Menge ein, die ausreicht, das Plasma zu töten. Niemals fand ich bei Dauerversuchen, die sich über einen, zwei oder drei Tage erstrecken, nachher noch lebende *Zygnema*-Zellen.

In Wien wurden am 5. Oktober die zwei im Ramsauer Material vorhandenen *Zygnema*-Arten verglichen. 0,5 n Soda wurde durch das Präparat gesaugt. In den Fäden von *Zygnema* RT waren alsbald alle Zellen konvex halbkugelig plasmolysiert; *Zygnema* sp. 2 mit schmälereu längereu Zellen zeigte noch keine Plasmolyse und erst nach 2–3 Min. eine schwache, die mit Abhebung der Protoplasten von den Längswänden verbunden war und langsam zunahm. Die Wasserpermeabilität des Plasmas ist wohl bei *Zygnema* RT viel größer als bei der zweiten Art. Beide vertragen aber die Sodaplasmolyse. Eine langgestreckte *Mougeotia* ( $16\ \mu$  breit) wurde grolenteils primär getötet. — Von den Zygnemen war nach einer Stunde *Zy.* RT durchwegs am Leben, die Zellen der *Zy.* sp. 2 waren etwa zur Hälfte lebend, zur



Abb. 6. In 0,5 n  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  plasmolysiert: a. *Spirogyra* sp. zeigt „bunte Nekrose“, b. *Zygnema* sp. zeigt normale Plasmolyse.

Hälfte tot. In vielen anderen Versuchen vertrugen auch verschiedene kleinere Mougeotien primär die Sodaplasmolyse.

Von besonderem Interesse ist das Verhalten der *Spirogyren*. Dasselbe wird näherer Untersuchung bedürfen, die sich aber doch nur lohnt, wenn fruchtendes oder sonst der Art nach bestimmbares Material vorliegt; denn anderenfalls sind ja die Versuche nicht reproduzierbar.

Wirkt hypertonische Sodalösung auf *Spirogyra*-Fäden ein, so lassen sich meist bald zweierlei Arten von Zellen unterscheiden, normal plasmolysierende und abnormale, nekrotische. Weber (1931, 1933) hat dies eigenartige Resistenzverhalten von *Spirogyren* als erster beobachtet, u. zw. einerseits in stark hypertonischer Harnstofflösung, andererseits in 16–20% Äthylalkohol; in beiden stirbt im selben Faden ein Teil der Zellen sogleich ab, ein anderer bleibt eine Zeitlang am Leben. Resistente und nicht resistente Zellen bzw. Fadenstücke waren in Webers Versuchen bunt verteilt oder es ließen sich bestimmte Gesetzmäßigkeiten erkennen; so waren junge, vor kurzem geteilte und noch nicht gestreckte Zellen gegen Harnstoffplasmolyse resistenter, gegen Alkohol aber empfindlicher als herangewachsene Zellen. Ich habe in mehreren *Spirogyra*-Materialien in hypertonischer Sodalösung die lebenden und nekrotischen Zellen eines Fadens ausgezählt. Mit aller Deutlichkeit tritt auch bei der Schädigung durch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  der Alles- oder Nichtstypus in Erscheinung. An einer Ramsauer einbändigen *Spirogyra*, die mit 0,5 n (mit Standortwasser aus 1,0 n verdünnt) am 4. Oktober behandelt und fortlaufend beobachtet wurde, ließ schätzungsweise ein Drittel der Zellen von den Ecken her konvexe Plasmolyse eintreten, der eine Längsabhebung der Protoplasten folgte, nachher rundeten sich diese, preßten sich den Längswänden an und gaben nach 10 Min. meßbare Konvexpasmolyse von Grad 0,75, zeigte also ein normales Plasmolyseverhalten. Zwei Drittel der Zellen wurden getötet und zeigten zart konturierte, osmotisch verkleinerte Tonoplasten. Für deren Größe bestimmte ich z. B. in einer Zelle, wo sie sich rundeten, nach 15 bis 20 Min., daß sie 0,28 und 0,30 vom Zellraum einnahmen. Der Vakuoleninhalt blieb klar, ohne Fällung. Die normal plasmolysierten Zellen blieben am Leben, die Auszählung nach 20 Min. ergab folgende Reihe:

lebend, normal plasmolysiert	1 1 1 3 1 3 1 1 1 2 2 1 1 1 1	= 31%
Plasma tot, Tonoplastenstadium	1 3 7 3 3 2 8 1 4 2 3 1 4 1 3	= 69%

Es wird also in einem Teil der Zellen das Plasmalemma überrannt, in einem Teil wird durch dieselbe Sodalösung eine normale Plasmolyse bewirkt. Die Lebensdauer der Protoplasten ist dann aber beschränkt.

Eine im Freien kühl kultivierte Ramsauer *Spirogyra* zeigt am 2. November in 0,5 n  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  etwas mehr resistente Zellen:

lebend	3 5 2 1 2 3 5 2 1 1 3 2 1 6 3 9	= 59%
Tonoplasten	2 4 2 1 2 1 1 3 4 3 2 1 1 1 5	= 41%

Ähnliche Verhältniszahlen getöteter und überlebender Zellen hat übrigens auch Eiselsberg (1939) an *Spirogyren* erhalten, die mit reinen, nicht äquilibrierten, d. h. nicht durch Erdalkali-Zusatz entgifteten NaCl-Lösungen

behandelt wurden. Beim Zusatz steigender Prozentanteile von  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{SrCl}_2$  zur plasmolisierenden Kochsalzlösung stieg in ihren Versuchen der Anteil der lebenden Protoplasten.

Höchst auffallend ist der Gegensatz im Verhalten der *Spirogyren* und *Zygnemen*. Bei *Spirogyra* tötet die Sodalösung im ersten Anprall einen Teil der Zellen und bewirkt so ein Mosaik aus nekrotischen Tonoplastenstadien und vitalen Konvexpasmolysen. Bei *Zygnema* tritt primär in allen Zellen eine normale Plasmolyse ein.

Es war zu prüfen, ob dies gegensätzliche Verhalten an Materialien anderer Herkunft wiederkehrt. Ich habe daher am 19. November in Wien ein Konjugatenmaterial untersucht, das ich am Vortag in der Kotlies bei Moosbrunn gesammelt hatte. Die  $n$ -Sodalösung wurde mit dem etwas kalkhaltigen Wasser vom Standort der Alge verdünnt, sie trübt sich dabei. Ich habe einerseits mit solcher trüber, anderseits mit  $0,5\ n$  Soda in  $\text{H}_2\text{O}$  plasmolysiert.

*Zygnema* sp. ( $42\ \mu$  breit, wohl *pectinatum*) wurde in reine  $0,5\ \text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung eingetragen. Schon binnen einer Minute ließen alle Zellen des Fadens eine schöne Konvexpasmolyse eintreten. Nach 10 Min. lebten alle (die einer Knickstelle benachbarten ausgenommen) und zeigten einen Plasmolysegrad um 0,7; in manchen Fäden war schwächere oder nur Grenzplasmolyse eingetreten, der Lebenszustand war aber gleich gut. Schon nach 50 Min. war dann aber die Mehrzahl der Fäden in der Sodalösung abgestorben, nur manche Fäden zeigten in einem Teil der Zellen noch konvexe normale Plasmolyse.

Der *Zygnema*-Watte waren Fäden einer einbänderigen,  $25$ – $27\ \mu$  breiten *Spirogyra* von dunkelgrüner Farbe und charakteristischem Habitus beige-mengt;<sup>3</sup> in mehreren anderen gesammelten Algenmaterialien war die gleiche *Spirogyra* rein vorhanden. — Ich brachte die Algen in  $0,5\ n\ \text{Na}_2\text{CO}_3$  (aus  $1,0\ n$  mit Standortwasser verdünnt und durch Kalkfällung getrübt). In vielen Zellen trat von den Ecken her eine gute konvexe Plasmolyse ein. Manche aber zeigten sogleich einen dichten, trübkörnigen Niederschlag im Zellsaft, und in diesen Zellen nahm die Plasmolyse nirgends mehr zu. Es ergab sich so wieder ein Mosaik aus lebenden und toten Zellen.

lebend, plasmolysiert 1 2 4 2 6 10 4 4 4 10 = 78%

tot, mit Niederschlag 2 1 1 1 1 3 1 1 1 1 = 22%

Von den plasmolysierten blieben die meisten am Leben, rundeten sich normal und der Zellsaft blieb völlig klar. (Doch sah ich nach 12–17 Min. manche, die sich von einer Querwand her trübten.) Nach 23–25 Min. waren die lebenden Protoplasten z. T. deutlich rückgedehnt, ohne daß deshalb ein Niederschlag im Zellsaft erschienen wäre. Nach 40. Min. waren diese „klaren“ Zellen teilweise noch konvex plasmolysiert, größtenteils aber grenz- oder deplasmolysiert. Als sodann das zur Seite gelegte Präparat leicht eintrocknete, nahm

<sup>3</sup> In meinen Protokollen als „*Spirogyra kotliesiana* mihi ad interium“ bezeichnet; in einer Probe trieben die Nachbarzellen schnabelförmige Fortsätze zur seitlichen Kopulation.

der Plasmolysegrad wieder zu. Bei der Revision nach 80 und nach 180 Min. lebten die Zellen noch. — Ganz ähnlich verhielt sich die dem oben beschriebenen *Zygnema*-Material beigemengte *Spirogyra*. Dort war mit 0,5 n Soda in dest. H<sub>2</sub>O plasmolysiert worden. Während alle *Zygnema*-Zellen den ersten Plasmolyseeeintritt vertrugen, gaben die *Spirogyren* wieder die gleichen bunten Bilder:

lebend: 3 2 3 2 1 3 4 7 2 1 1 1 2 1 1 1 6 1 3 1 1 1 2 1 1 4 4 15 2 2 3  
 tot: 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 2 1 8 1 1 8 2 1 1 1 1 1 3 3 1 1 2 1  
 1 2 2 = 89 61 %  
 1 1 2 = 56 39 %

Die Auszählung geschah 2—9 Min. nach dem Einlegen in die Lösung. Der Grad der Endplasmolyse war um 0,76. — Als nach 50 Min. die *Zygnema*-Zellen meist getötet waren, hatte sich bei *Spirogyra* die gemischte Reihe toter und lebender Protoplasten erhalten, die letzteren wiesen meist wieder nur mehr eine Eckenplasmolyse auf, sie waren rückgedehnt, ohne daß sich der Zellsaft dabei getrübt hätte. — Ein gleicher Versuch vom 24. November ist in Abb. 6 dargestellt.

Eine andere, am 18. November gesammelte Algenprobe enthielt 31—35  $\mu$  breite *Spirogyra varians* in Konjugation. Mit 0,5 n Soda in H<sub>2</sub>O behandelt, gaben sterile Fäden in der Mehrzahl der Zellen eine normale Plasmolyse und nur 28% der Zellen, regellos verteilt, wurden primär unter Niederschlagsbildung im Zellsaft getötet.

lebend: 1 2 4 9 5 2 1 1 2 3 3 4 3 9 2 1 4 2 4 1 4 1 2 3 3 3 4 2 12 3  
 tot: 1 1 2 1 1 2 2 1 3 2 1 1 1 2 1 3 1 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 2  
 6 = 106 72 %  
 2 = 42 28 %

In zwei Fäden, deren Zellen Kopulationsschläuche austrieben, war die Resistenz noch besser; es lebten 78% und 97% der Zellen. In Fäden mit fertigen, noch grünen Zygoten waren diese etwa zu gleichen Teilen schön, aber eckig plasmolysiert und ohne Niederschlagsbildung getötet.

In einem anderen, vor der Kopulation stehenden Fadenpaar zeigten die männlichen Zellen ein an Schraubenplasmolyse gemahnendes Bild, die weiblichen (an der Anschwellung der inneren Zellängsseiten kenntlichen) eine annähernd, wenn auch nicht völlig konvexe Plasmolyse. (Weber, 1924, hat den Wandel der Plasmolyseform vor und während der Konjugation bei derselben *Spirogyra*-Species beobachtet.) In beiden Fäden lebten praktisch alle Zellen, die kopulierenden Fäden sind demnach eher noch resistenter gegen Soda als die vegetativen. In letzteren waren nach 25 Min. in einzelnen, jetzt toten, also sekundär abgestorbenen Zellen ein zentral gelegener Tonoplast mit spärlichem Niederschlag übriggeblieben, beiderseits lagen die völlig degenerierten Chromatophoren.

Die Versuche ergänzen die oben mitgeteilten ganz wesentlich. Beide Male beobachtet man in der Sodalösung die bunten Reihen lebender und nekro-

tischer Zellen. Im Ramsauer *Spirogyren*-Material wird aber in den primär getöteten Zellen Plasmalemma und Binnenplasma überrannt, während die Tonoplasten standhalten und sich osmotisch verkleinern. Dementsprechend fehlt die Niederschlagsbildung im Zellsaft (Coffeinbehandlung zeigt, daß fällbare Tannine auch dort in den Vakuolen reichlich vorhanden waren). — Im niederösterreichischen Material dringt die Sodalösung dort, wo sie das Plasmalemma überrannt und zerstört hat, überall direkt bis in die Vakuole und bewirkt da die zu stärkster Trübung führende Fällung. Den in üppiger Entwicklung begriffenen, also „jungen“ *Spirogyren*<sup>4</sup> fehlt demnach der resistente Tonoplast. Das Verteilungsbild lebender und getöteter Zellen wird aber darum nicht geändert. Das Plasmalemma entscheidet eben über das Schicksal der Zellen beim Anprall der Sodalösung. — Die Unterschiede in der Ausbildung von Plasmalemma und Tonoplast gehen von Material zu Material nicht symbat.

### B. Chlorophyceae

Von Chlorophyceen wurden nur einige ausgewählte Formen untersucht.

Am auffallendsten war, daß *Eudorina elegans* (die sich in den Hochmoorproben aus RT im September 1950 besonders reichlich in gut beweglichem Zustande fand) durchwegs bei der ersten Einwirkung getötet wird. Gleiches scheint für (unbestimmte) *Chlamydomonas*-Formen zu gelten. Den begeißelten *Volvocales* scheint ein geschlossenes, das Binnenplasma schützendes Plasmalemma zu fehlen. Dagegen wurde bei vielen *Protococcales* und *Tetrasporales* — ähnlich wie bei *Zygnema* — eine primäre Plasmolyse in hypertonischer Sodalösung festgestellt.

So verträgt *Eremosphaera viridis* die Sodalösung vielfach in einem Teil der Zellindividuen, z. B. etwa in der Hälfte. Ich sah dann auch nach mehreren Stunden vereinzelt gute kugelkonvexe oder etwas eckigkonvexe Plasmolyse; an einem genau abgekugelten Protoplasten maß ich nach 50 Min. Einwirkung von  $\frac{2}{3} n$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  den Plasmolysegrad mit 0,64. Vereinzelt sah ich in sekundär getöteten Zellen frei gewordene und aus den grünen, geschrumpften Protoplasten ausgetretene Tonoplastenblasen. Zwei solche waren z. B. 48 und 50  $\mu$  breit in einer Zelle, die in geschrumpftem Zustand  $125 \times 140 \mu$  maß. Eine Dauerplasmolyse in Soda wurde nicht vertragen.

Ein *Oedogonium* sp. aus RT, welches nicht bestimmbar, aber gut wiederzuerkennen war, wurde näher untersucht. Die Sodaplasmolyse wurde primär vertragen. Der osmotische Wert der Zellen lag um 0,35 mol. Traubenzucker. In 0,4 und 0,6 mol. Traubenzucker trat überall schöne, anfänglich konkave Plasmolyse mit den bekannten negativen Plasmolyseorten am Zellpol (Cholnoky 1931) ein. Die Zellen blieben in Zucker tage-, ja wochenlang am Leben. In 0,65  $n$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  erhielt ich auch in allen Zellen gute Plasmolyse mit ähnlichen, deutlich polaren Formen. Die Lebensdauer der Protoplaste

<sup>4</sup> Im pannonischen Klima des östlichen niederösterreichischen Flachlandes ziehen die *Spirogyren* in der warmen Jahreszeit meist ein, im milden November herrscht der „Algenfrühling“. Im alpinen Klima der Ramsau gedeihen die *Spirogyren* im Sommer und es liegen im Herbst (September) erwachsene oder alternde Algenwatten vor.



war beschränkt. In einigen Stunden war stets alles tot. Ich behandelte gleiches Material in schwächer hypertotonischer 0,5 *n*-Sodalösung, wo gute polare Plasmolyse eintritt, und übertrug die Fäden nach 5 Min. in 0,4 mol. Traubenzucker. Auf solche Art blieben die Protoplasten am Leben und zeigten 40 Min. nach der Überführung normale Plasmolyse mit teils kugeligkonvexen, teils noch durch die Haftorte bestimmten Formen. 27 Stunden später in der Traubenzuckerlösung untersucht, zeigte das *Oedogonium* noch lebende Protoplasten mit halbkugeligen Menisken, die aber, verglichen mit den direkt in Zucker eingebrachten Kontrollen, viel zu klein waren. Sie hatten offenbar nachträglich ihr Volumen vermindert. Die Sodavorbehandlung von 5 Min. hatte eine starke Exosmose zelleigener Stoffe und damit fortschreitende Plasmolyse in Zucker (vgl. de Vries 1885, S. 567) ausgelöst. Der Plasmolysegrad betrug in einer gemessenen Zelle 0,29, das entspräche einem osmotischen Wert von 0,12 gegenüber einem Ausgangswert von 0,35 mol. Zucker, also einem Verlust von fast zwei Drittel der osmotisch wirksamen Zellsaftsubstanz. — Ein zweites, kleineres, dem Material beigemengtes *Oedogonium* lebte im selben Versuch, zeigte schwache Konvexplasmolyse oder die Fäden waren deplasmolysiert; hier war also keine verstärkte Exosmose von Vakuolenstoffen eingetreten.

Diatomeen geben vielfach bei Einwirkung hypertotonischer Sodalösung gute Plasmolysebilder, meist unter Wahrung der negativen Plasmolyseorte an den Zellpolen (Cholnoky 1928). Doch will ich auf meine mehr gelegentlichen Beobachtungen nicht im einzelnen eingehen. Lange Lebensdauer der Protoplaste in der Sodalösung habe ich nirgends gefunden.

Frei bewegliche Peridineen, die reichlich vorhanden waren, wurden durch die  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung getötet.

### C. Cyanophyceae

Unter den einzelligen *Chroococcales* liefert *Synechococcus aeruginosus* s. l. das beste Material für Plasmolyseversuche. Die Zellen haben ansehnliche Größe, eine zarte Zellwand und sind frei von Gallerthüllen. Die Art fand sich 1950 in den Ramsauer Mooren nur ganz spärlich. Anfangs November erhielt ich aber gutes, frisches Material, welches Herr W. Loub am 29. Oktober in einem Hochmoor bei Windischgarsten in den oberösterreichischen Alpen gesammelt hat. Die Zellen waren um 24–27  $\mu$  breit, die Alge ist also zu *Synechococcus maior* Schroeter zu stellen (vgl. Geitler 1950, S. 274).

In 1,0 *n* Traubenzucker plasmolysieren die Zellen mit großen konkaven Buchten, die Plasmolyseorte ließen keinerlei Regelmäßigkeit der Lage erkennen. Ein großes, jung geteiltes Zellenpaar gab anfangs (nach 8 Min. Plasmolysezeit) in jeder Halbzelle eine in Profilsicht gut sichtbare, ringsum verlaufende breite Delle, nachher aber Längsabhebung auf weitere Strecken. Konvexe Endformen der Plasmolyse fehlten, wie allgemein bei Cyanophyceen (vgl. Kuchar 1950 und die dort zit. Lit.). Auch in 0,5 *n*



Traubenzucker erhielt ich gute Plasmolyse und manchmal Eindellung der freigelegten Menisken der Zellmembranen, ähnlich wie sie beim osmotischen Kollaps (vgl. Küster 1929, S. 37) anderer zartwandiger Zellobjekte bekannt ist. Saugt man Standortwasser durchs Präparat, so geht die Plasmolyse normal zurück und Zellen, die von der Strömung fortgerollt und so abwechselnd von allen Seiten der Beobachtung zugänglich werden, lassen den Deplasmolyseverlauf gut erkennen. Stets bleibt die Plasmolyse buchtig konkav wie bei anderen Blaualgen.

Versetzte ich Proben mit  $1,0\text{ }n\text{ Na}_2\text{CO}_3$ , so trat in den *Synechococcus*-Zellen auch eine starke, viel- und kleinbuchtige konkave Plasmolyse ein, ohne daß die Zellen dabei getötet wurden. Nach zwei Stunden waren sie stark buchtig plasmolysiert und dunkel blaugrün geblieben. Wenn die Zellen dann absterben, so geht die Plasmolyse zurück, die Zellwand wird wieder prall und die Färbung bleicht sichtlich aus.

Ich setzte Dauerversuche in  $\frac{2}{3}\text{ }n\text{ Na}_2\text{CO}_3$  an. Nach einigen Stunden waren manche Zellen noch vielbuchtig konkav plasmolysiert und unvermindert dunkel blaugrün gefärbt, andere getötete Zellen zeigten zahlreiche zart konturierte, zuweilen gedrängt liegende kugelige Vakuolen von  $4\text{--}9\text{ }\mu$  Durchmesser im Zellinneren. Solche waren noch nach einer Woche in der Sodalösung erhalten. Die vakuolige Degeneration scheint für *Synechococcus* das typische Nekrosebild in Sodalösung zu sein.

Orientierend beobachtete Oscillatorien ließen in  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung Plasmolyse der für sie kennzeichnenden Form (Kuchar 1950) eintreten.

Wenn man aus primärer Plasmolysierbarkeit in Sodalösung auf die Existenz eines schützenden Plasmalemmas schließen darf, so kommt ein solches auch den beobachteten Blaualgen zu.

### Rückblick und Besprechung

Die Frage der Ausbildung des Plasmalemmas bei verschiedenen pflanzlichen Zelltypen wird mit einer durch Einfachheit gekennzeichneten Methode untersucht. Es wurden einerseits Gewebszellen verschiedener Blütenpflanzen, andererseits mannigfache Algenzellen mit hypertotonischer Sodalösung behandelt. Die  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung hat stark alkalische Reaktion<sup>5</sup> und ist für lebendes Plasma sehr schädlich. Die Zellen der Zwiebelhäutchen und Oberhautzellen von zahlreichen anderen Blütenpflanzen sterben in diesen Lösungen rasch ab. Dabei wird die äußere Plasmagrenzschicht und das Innenplasma getötet, und nur wenn ein ausreichend kräftiger Tonoplast vor-

<sup>5</sup> Auf Veranlassung meines verehrten Kollegen Prof. F. Wessely teilt mir Herr Dr. Derkosch vom II. chemischen Institut der Universität Wien folgendes mit: Für die  $n\text{-Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung liegt der  $p_{\text{H}}$ -Wert etwa bei 11,95, also um 12. Die Verdünnung aufs Doppelte ändert die Hydrolyse nur wenig, für  $n/2\text{ Na}_2\text{CO}_3$  liegt  $p_{\text{H}}$  um 11,8.

Die Hydrolyse-Konstante für die 1. Dissoziation beträgt  $1,78 \cdot 10^{-2}$  (für die 2. Dissoziation nur  $2,32 \cdot 10^{-6}$ ). Danach ist die  $n\text{-Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung etwa zu 1% hydrolytisch gespalten, die  $0,1\text{ }n\text{-Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung etwa zu  $4\frac{1}{2}\%$ .

handen ist, bleibt dieser zunächst noch erhalten. So kommt eine typische Tonoplastenplasmolyse zustande. Bemerkenswerterweise sind die Protoplasten des Parenchyms vielfach resistenter gegen die Sodalösung als die der Epidermis. Die Intrabilität der Epidermiszellen erscheint größer als die der angrenzenden Grundgewebszellen, ein Befund, der sich manchen Ergebnissen der protoplastischen Pflanzenanatomie (Weber 1929b, Reuter 1948, 1949) anreicht.

Die äußere Plasmagrenzschicht, das Plasmalemma, entscheidet über die Intrabilität. Eine verschieden starke Ausbildung und „Schutzwirkung“ des Plasmalemmas bei verschiedenen Zelltypen wird in ungleicher Intrabilität, und wenn plasmaschädigende Agentien einwirken, in einer unterschiedlichen Resistenz der Zellen Ausdruck finden. — Wie verhalten sich nun die an Süßwasser grenzenden Algenzellen gegenüber der Sodalösung? Meine Versuche haben gezeigt, daß die Mehrzahl der untersuchten Objekte in hyper-tonischer  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung anfangs normal plasmolysierbar ist, d. h. die Protoplasten lösen sich von der Zellwand und runden sich ab; ein abdichtendes Plasmalemma verwehrt also wohl der Lösung anfangs den Zutritt zum Binnenplasma. Allein es dauert nicht lange, beispielsweise 30 Min., 1 oder 2 Stunden, so sterben die Zellen ab oder es kommt zu einem sekundären Tonoplastenstadium. Jetzt ist also die Sodalösung in ausreichender Menge durch das Plasmalemma ins Binnenplasma gedrungen, es zu töten. Ein Beispiel für solches Verhalten bietet *Zygnema* (S. 445, Abb. 6).

Recht überraschend verhielten sich hingegen verschiedene Desmidiaceen. *Euastrum oblongum*, *Cosmarium pseudopyramidatum*, *Arthrodesmus convergens* und etliche andere vertragen in allen Zellen die Sodalplasmolyse. Die Protoplaste lösen und runden sich und bleiben am Leben. Auch nach 24, nach 48 und 72 Stunden sind praktisch noch alle Zellen lebendig und normal plasmolysiert. Wurde nach 24 Stunden die Sodalösung schrittweise ausgesüßt, so reagierte z. B. *Euastrum oblongum* mit normaler Rückdehnung der Protoplasten bis zur Deplasmolyse.

Die Befunde sind wohl folgendermaßen zu deuten. Die äußere Plasmagrenzschicht ist so undurchlässig und übt so starke Schutzfunktion aus, daß die Sodalösung nicht bis ins Binnenplasma dringen kann; denn auch nach mehreren Tagen finden sich keine Aufquellung des Binnenplasmas, keine Kappenplasmolysen oder ähnliche Nekrosebilder, wie sie als Übergangsstadium in Gewebszellen während der Sodanekrose durchlaufen werden. Und es wäre unwahrscheinlich, daß es ein Plasma gäbe, welches bei Berührung mit hochkonzentrierter Sodalösung tagelang am Leben bliebe.

Die Plasmolyse erfolgt bei diesen resistenten Zieralgenzellen sowohl in Zucker- und in Harnstoff- wie in Sodalösung recht glatt und ohne sichtbare Ausbildung Hechtscher Fäden. Die Außenkontur erscheint bei mittlerer Vergrößerung als scharf gezeichnete, optisch dunkle Linie, die man mit allem Vorbehalt als sichtbares Plasmalemma anzusprechen geneigt wäre. So darf man vorläufig schließen, daß die genannten Desmidiaceenarten ein besonders kräftiges und derbes Plasmalemma besitzen, welches die dauernd

niedrige Intrabilität für  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bedingt. Durch solche Sondercharaktere erobern sich die Zieralgen ihren Platz in der Permeabilitätsforschung.

Um eine „ökologische Resistenz“ im Sinne Biebls kann es sich dabei nicht handeln. Würde ähnliches etwa an Algen der Salzlichen am Neusiedlersee beobachtet, so könnte die Resistenz eine Anpassung an den an Soda reichen Standort sein. Unsere Algen leben aber im sauren Hochmoorwasser; die meisten Desmidiaceen sind bekanntlich recht exklusiv in ihren Standortsansprüchen und an solches Moorwasser gebunden. Die Umwelt ist der der alkalischen Sodagewässer sozusagen entgegengesetzt. Das spräche dafür, im dichten und resistenten Plasmalemma einen Ausdruck „konstitutioneller Resistenz“ (Biebl) zu sehen. Wir kennen allerdings das Verhalten der Algen gegen andere Gifte noch nicht, und es wird experimentell zu prüfen sein, ob die kräftigen Plasmalemmen etwa auch eine Abdichtung der lebenden Protoplasten gegen andere gelöste Stoffe, gegen die ein Schutz am Standort nützt, bewirken.

Webers (1931) allgemeines Prinzip für die Plasmolyseresistenz hat bei unseren Befunden seine Geltung. Es besagt, daß der plasmolytische Eingriff um so mehr schädigt, je schwerer sich der Protoplast von der Zellwand löst. Je größer also das Haftvermögen, desto kleiner die Plasmolyseresistenz. — Die widerstandsfähigen Desmidiaceen-Zellen sind meist sehr leicht und glatt plasmolisierbar, die Störung und Verletzung des Plasmalemmas beim Plasmolyseeintritt bleibt wohl gering.

Bei den geprüften Gewebszellen höherer Pflanzen ist dagegen mit einer Erhöhung der „Plasmolyseintrabilität“ (Strugger 1949) zu rechnen.<sup>6</sup> Beim nachgewiesenen Resistenzunterschied von Epidermis und Parenchym mag ein festeres Haften an der Zellwand, ein größeres „Haftvermögen“ (Weber 1929 a, Höfler 1932 b) der Epidermisprotoplaste ursächlich beteiligt sein. Wässerung der Schnitte vor dem Versuch vermindert das Haftvermögen, sie erhöht auch in gewissen Grenzen die Resistenz gegen  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Plasmolyse. So habe ich die Blattstielzellen von *Rumex sanguineus*, die sonst wie S. 431 beschrieben reagierten, einmal bei starkem dauerndem Regen eingesammelt und mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  behandelt; das Gewebe war mit Wasser infiltriert; auch die Epidermiszellen ergaben diesmal nicht primäre Tonoplasten, sondern zunächst eine normale Plasmolyse. — Die meisten Objekte wurden einheitlich ohne vorangehende Wässerung in die Sodalösung gebracht. Nur am zellphysiologisch gut bekannten Objekt *Majanthemum* wurden ungewässerte und gewässerte Schnitte untersucht (vgl. S. 436). Die letzteren vertrugen die Plasmolyse besser. Das Plasmalemma hält hier so dicht, daß sogar Plasmasytrophe eintreten kann. Dann erst wird die Intrabilität erhöht, es kommt zur Aufquellung des Binnenplasmas, zu Kappenplasmolyse, während der

<sup>6</sup> Die S. = 430 u. = 434 mitgeteilten Angaben, wo im Reihenversuch auch hypotonische Konzentrationen das Plasma töten, stehen mit Webers Prinzip nicht in Widerspruch. Wahrscheinlich wird sich auch für Soda, wenn man danach sucht, ein Konzentrationsbereich bzw. eine Versuchsdauer finden lassen, wo im Reihenversuch die Intrabilität erst bei Hypertonie der Außenlösung erhöht wird.

Tonoplast noch undurchlässig, der Zellsaft noch rosa bleibt; im dritten Stadium wird auch der freigelegte Tonoplast permeabel, das Zellsaftanthocyan färbt sich blau. Auch wo sich das Plasmalemma beim Plasmolyseeintritt erhalten hat, dringt also doch die Soda nachher sekundär erst bis in das Binnenplasma, dann auch bis in den Zellsaft.

Es muß hervorgehoben werden, daß die Resistenzgrenzen solcher Gewebszellen und die der empfindlicheren bzw. mittelresistenten Algenzellen sich überschneiden, daß also zwischen „Gewebszellen“ und „an Süßwasser grenzenden Zellen“ keine unüberbrückte Kluft bezüglich der Resistenz besteht, welche berechtigen würde, den einen ein „Plasmalemma“ generell zuzuschreiben, den anderen abzusprechen. Es sind nur gewisse Algen, vornehmlich eben Zieralgen wie *Euastrum oblongum* usw., die durch die lange Lebensfähigkeit in Sodalösung auch in plasmolysiertem Zustande ausgezeichnet sind.

Wie eingangs erwähnt, hat Weber (1932 b, 1934) Tonoplastenplasmolysen, die den von mir mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  erzeugten ganz ähnlich sind, durch Vorbehandlung mit Kaliumoxalat und folgende Plasmolyse mit indifferenten Ca-freien Lösungen von Harnstoff, Glyzerin, Traubenzucker usw. erzielt. Er arbeitet mit *Allium*-Innenhäutchen, *Spirogyra* und unterseitigen Blattepidermen von *Ranunculus ficaria*. Er zeigt, daß die Bildung einer neuen äußeren Plasmahaut an Stelle der durch die Plasmolyse gestörten nur möglich ist, wenn Ca vorhanden ist oder wenn solches mit dem Plasmolytikum neu zugeführt wird. Wird durch das Oxalat das Ca gebunden, aus der Plasmagrenzschicht entfernt, so kann keine neue äußere Plasmahaut gebildet werden. Es besteht „eine auffallende Analogie mit der Hautschichtbildung an durch Verletzung freigelegtem Protoplasma“ tierischer Zellen, auch dort kommt, wie Heilbrunn und seine Mitarbeiter auf breiter Versuchsgrundlage zeigten (vgl. zuletzt Terry 1950), die surface precipitation reaction nur bei Gegenwart von Ca zustande.

Es ist durchaus anzunehmen, daß auch bei den pflanzlichen Gewebszellen die plasmolysierende Sodalösung durch Störung des Ionengleichgewichtes und Entfernung des Ca die äußere Plasmagrenzschicht schädigt, was dann in der Überflutung und Überschwemmung des Binnenplasmas zum Ausdruck kommt und schließlich zur Tonoplastenplasmolyse führt.

Ich habe zehn meiner Objekte, gleichlaufend mit den Sodaversuchen, auch orientierend mit hypertonen K-Oxalat-Lösungen (in bidest.  $\text{H}_2\text{O}$ ) behandelt. Ihre Wirkung war der der Sodalösung vergleichbar. Doch wurde das Oxalat mehrfach eher besser vertragen, zumal bei Pflanzen mit Ca-reichem Gewebe. *Helleborus niger* (vgl. S. 433) gab in 0,9 mol.  $\text{K}_2(\text{COO})_2$  in der Epidermis meist primäre Tonoplasten, im subepidermalen Parenchym normale Plasmolyse, die sich einige Stunden erhielt. Stengelschnitte von *Homogyne alpina* lieferten Tonoplastenplasmolysen in Epidermis und Parenchym. *Rumex sanguineus* und andere Objekte gaben konkave oder Zerrplasmolysen, wurden also wohl weniger geschädigt als durch Soda. *Majanthemum* gab im Oxalat konvexe Plasmolysen. Von näherer Einzelbeschreibung der bloß orientierenden Versuche darf abgesehen werden.

Wie verhalten sich die gegen Soda hochresistenten Desmidiaceen im Plasmolyseversuch mit Kaliumoxalat? Ich habe solche Versuche im September in der Ramsau und dann nochmals Anfang Febr. 1951 in Wien an sorgsam kultiviertem, gut erhaltenem Material angestellt. Die Algen wurden zwei Stunden vor dem Versuch ins temperierte Zimmer ( $T = 16$  bis  $17^{\circ}\text{C}$ ) gebracht, da Kälte die Plasmolyseresistenz herabsetzt (Weber 1932 b). Viele Arten zeigten in 0,7 mol. K-Oxalat eine glatte Plasmaablösung und völlig normale Konvexplasmolyse; so *Euastrum oblongum*, *E. ansatum*, *Cosmarium pseudopyramidatum*, *C. connatum*, *C. margaritifera*, *Arthrodesmus convergens*, *A. incus*, *Xanthidium antilopaeum*, *X. armatum*, *Micrasterias truncata*, *Staurastrum furcatum*, *Netrium digitus*, *N. oblongum*. Binnen einer Stunde stirbt keine Zelle ab. *Euastrum oblongum* und *ansatum* leben nach 24 Stunden (in einer Mischlösung aus 7 T. mol.  $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$  + 3 T. Standortswasser); viele Zellen leben auch noch nach 48 Stunden, so *Euastrum oblongum*, *E. ansatum*, desgl. *Arthrodesmus convergens*, *Xanthidium antilopaeum* u. a. Zellen von *Zygnema* sp. (*cruciatum*-Gruppe) leben nach einem Tag durchwegs, nach zwei Tagen noch zu mehr als drei Vierteln, eine kleine *Mougeotia* sp. nach einem Tag zum größten Teil, während im Parallelversuch mit 0,7 n Soda beide *Zygnemales* durchwegs tot sind. Auch andere Arten sind resistenter gegen K-Oxalat als gegen Na-Carbonat.

Die Algen bewohnen in der Natur das Ca-arme Hochmoorwasser. Ihr Plasmalemma hält dicht, auch wenn hypertonische Oxalatlösung einwirkt, die der Plasmaoberfläche doch alles Calcium entziehen muß. Sollte die auffallend dauerhafte äußere Plasmagrenzschicht hier nicht durch Niederschlagsbildung mit Ca bedingt sein, sondern auf eine grundsätzlich andere Weise zustande kommen? Das wäre von hoher Bedeutung für die vergleichende Protoplastmatik der Algen.

In den Winterversuchen fiel *Pleurotaenium nodulosum* durch sein Plasmolyseformverhalten im Kaliumoxalat auf. Die Protoplaste erreichen nicht wie die der anderen Zieralgen rasch die konvexe Endform, sondern bleiben zunächst konkav-buchtig und sind noch nach 24 Stunden längsabgehoben: zahlreiche gut sichtbare Hechtsche Fäden verbinden Plasma und Zellwand. Solche zeigt auch die Grünalge *Eremosphaera viridis*. Nach 48 Stunden lebt *Pleurotaenium* und hat dann normale konvexe Endplasmolyse. — Wir erkennen, daß auch da, wo keine glatte Loslösung erfolgt, sondern die ursprüngliche Oberfläche bei der Plasmolyse gestört wird, dennoch das calciumentziehende Oxalat das Plasmalemma nicht zerstört.

Es spricht dies für die Annahme eines Plasmalemmas, bei dessen Konstitution die Oberflächenfällung mit Ca keine entscheidende Rolle spielt, — ja an dessen Aufbau Ca vielleicht gar nicht beteiligt ist. Erinnern wir uns an Molischs und Beneckes grundlegenden Nachweis, wonach gewisse Algen und Pilze ganz ohne Ca kultiviert werden können, Ca also hier nicht wie sonst zu den unentbehrlichen Bausteinen der Zelle gehört. Zumindest bei diesen muß es auch eine Plasmagrenzschicht ohne Ca geben. — Gilt vielleicht ähnliches für die Plasmagrenzschicht der Hochmooralgen, die im Ca-



armen Wasser zu Hause sind? Oder nehmen diese Algen eine Mittelstellung ein?<sup>7</sup>

Ganz anders verhält sich die *Spirogyra*-Zelle. Hier hat schon Weber (1932 c) die Notwendigkeit des Ca für die Plasmalemmarestitution ausdrücklich nachgewiesen. Meine Sodaversuche stehen damit in Einklang. *Spirogyra*, die so gern zu physiologischen Versuchen herangezogen und wohl als Typus der Algenzelle betrachtet wird, zeigt aber ein Sonderverhalten im Resistenzversuch! Die Fäden geben bei  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Plasmolyse — so wie nach Weber (1931 a, 1933) bei Harnstoff- oder Alkoholbehandlung — das sonst bei Algen noch nicht bekannte Bild einer „bunten Nekrose“. In regelloser Verteilung werden manche Zellen primär getötet, indem die hypertoniische Sodalösung Plasmalemma und Binnenplasma sozusagen überrennt; dagegen bleiben andere Zellen, die der ersten Einwirkung standhalten, dann ziemlich lange am Leben. — Eiselsberg (1937, S. 549) hat in meinem Laboratorium in *Spirogyren* eine ähnlich bunte Nekrose auch schon mit reinen, nicht äquilibrierten, neutralen Alkalisalzlösungen (NaCl, KCl, LiCl) erzielt; bei abgestuftem Zusatz geringer  $\text{CaCl}_2$ -Mengen wurde der Hundertsatz der am Leben verbleibenden Zellen stetig erhöht, die Kurven zeigten ein anfangs steiles, dann immer langsames Absinken der Mortalitätswerte. — *Spirogyra* fehlt im sauren Hochmoorwasser. Bei ihr dürfte das Ca bei der Plasmalemmabildung und -neubildung im Sinne Webers und Heilbrunns eine wesentliche Rolle spielen.

### Zusammenfassung

1. Die Resistenz verschiedener Pflanzenzellen gegen  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung ist außerordentlich verschieden.

2. Viele Gewebszellen werden durch hypertoniische Sodalösung unmittelbar getötet oder es tritt Tonoplastenplasmolyse ein. In anderen erfolgt zuerst eine Plasmolyse von normalem Aussehen, aber bald quillt das Plasma auf und stirbt dann ganz oder bis auf die Vakuolenhäute ab. — Oft zeigt sich

<sup>7</sup> Über Tiere, die strenge Bindung an Moorwasser zeigen, vgl. Thienemann 1950, S. 9, Harnisch 1929. Vom Faktorenkomplex, der im Hochmoorwasser auf die Organismen einwirkt, sind in chemischer Hinsicht am wichtigsten: hoher Gehalt an Humusstoffen, niedriger  $p_{\text{H}}$ , geringer Nährstoffgehalt, meist geringer Kalkgehalt. — In der Regel ist das Hochmoorwasser äußerst arm an Calcium, da dieses infolge der Basenadsorption fast gänzlich gebunden und festgelegt wird (vgl. z. B. Ruttner 1940, Redinger 1934).

Kleine Ca-Mengen werden bekanntlich bei etlichen Desmidiaceen in Form von Gipskriställchen in den Endvakuolen ausgeschieden (vgl. Kopetzky-Rechtperg 1931, Krieger 1933) und so vielleicht dem Stoffwechsel entrückt.

Warén (1926, 1933) und Pringsheim (1926, 1930) haben über das Calciumbedürfnis der Desmidiacee *Micrasterias rotata* sehr eingehende Kulturversuche angestellt. Normale Zellteilungen sind hier bei Ca-Mangel nicht möglich. Nach Warén (1936) ist auch bei der Kultur der Hochmooralge *Eremosphaera viridis* das Ca unentbehrlich, bei einer *Microspora* sp. ließ sich hingegen ein Ca-Bedürfnis nicht nachweisen.



die Epidermis weniger resistent als das angrenzende Parenchym (Abb. 1, S. 432).

3. Die meisten Algenzellen lassen hingegen primär normale Plasmolyse eintreten. Viele sterben nachher bald ab. Bei manchen wird aber die  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Plasmolyse tagelang ertragen.

4. Ungleiche Resistenzen der Protoplasten gegen schädigende Stoffe kann theoretisch auf zweierlei Art zustande kommen. Das Plasmalemma ist verschieden durchlässig, d. h. die Intrabilität ist niedrig oder hoch. Oder die Stoffe treten in gleicher Weise ein, aber die einen Cytoplasmen sind gegen sie resistent, die anderen werden getötet. Im Falle der  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Einwirkung handelt es sich höchstwahrscheinlich um ungleiche Durchlässigkeit bzw. Schutzwirkung der äußeren Plasmagrenzschicht.

So gibt uns die Soda-Resistenz ein Maß für die Ausbildung des Plasmalemmas.

5. Zellen von 20 Anthophyten und etwa 50 Algenarten wurden vergleichend geprüft. In den Zellen der Landblütenpflanzen erscheint das Plasmalemma schwach (z. B. *Allium*) bis mäßig stark ausgebildet; bei Süßwasseralgen aber mäßig bis sehr stark. Zumal viele Desmidiaceen sind durch geringe Soda-Intrabilität, also durch den Besitz eines besonders dicht abschließenden Plasmalemmas ausgezeichnet, das wohl — im Sinne Plo we's — als Schutzorgan fungiert. Manche Arten halten in plasmolisierender Soda-lösung 3 Tage und länger lebend aus (z. B. *Euastrum oblongum*, *Arthrodesmus convergens* u. a., Abb. 3, S. 441). Die Soda-Resistenz der Zieralgen ist von Art zu Art abgestuft, aber doch im ganzen groß.

6. Den begeißelten Volvocales (*Eudorina*, *Chlamydomonas*), auch den Peridineen scheint ein geschlossenes Plasmalemma zu fehlen, sie werden in der Sodalösung unmittelbar getötet.

7. *Spirogyra*, die in der Zellforschung so oft als Typus der Algenzelle gilt, hat eine Sonderorganisation; sie gibt in hypertotonischer  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung das Bild „bunter Nekrose“ (Abb. 6, S. 445). — Wie Weber (1932) gezeigt hat, ist bei *Spirogyra* — wie bei *Allium* — Calcium nötig zur Restitution des durch Plasmolyse gestörten Plasmalemmas. Dagegen ist am Aufbau der dichten und dauerhaften Plasmagrenzschicht der Desmidiaceen, die auch durch Kaliumoxalat nicht zerstört wird, das Ca vermutlich nicht entscheidend beteiligt.

#### Literatur

- Benecke, W., 1895: Die zur Ernährung der Schimmelpilze notwendigen Metalle. *Jahrb. wiss. Bot.* 28, 487.
- Biebl, R., 1947: Die Resistenz gegen Zink, Bor und Mangan als Mittel zur Kennzeichnung verschiedener pflanzlicher Plasmensorten. *Sitzungsber. Österr. Akad. Wiss., math.-nat. Kl.*, Abt. I, 155, 145.
- 1948: Weitere chemische Resistenzuntersuchungen an pflanzlichen Plasmen. *Anzeiger Österr. Akad. Wiss., math.-nat. Kl.*, Nr. 15, 239.
- 1949: Vergleichende chemische Resistenzstudien an pflanzlichen Plasmen. Über „ökologische“ und „konstitutionelle“ Resistenzen. *Protoplasma* 39, 1.
- Chambers, R., 1949: Micrurgical studies on protoplasm. *Biological Reviews* 24, 246.

- Chambers, R., und Höfler, K., 1931: Micrurgical studies on the tonoplast of *Allium Cepa*. *Protoplasma* 12, 338.
- Cholnoky, B. von, 1928: Über die Wirkung von hyper- und hypotonischen Lösungen auf einige Diatomeen. *Intern. Rev. d. ges. Hydrobiol.* 19, 452.
- 1931: Untersuchungen über den Plasmolyse-Ort der Algenzellen. IV. Die Plasmolyse der Gattung *Oedogonium*. *Protoplasma* 12, 510.
- und Höfler, K., 1950: Vergleichende Vitalfärbungsversuche an Hochmooralgen. *Sitzungsber. Österr. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I*, 159, 143.
- Eibl, K., 1939: Kontraktion der Chromatophoren bei *Micrasterias rotata*. *Protoplasma* 32, 251.
- 1941: Die Restitution der Chromatophorenform bei *Micrasterias rotata* nach Schleuderung. *Protoplasma* 35, 595.
- Eiselsberg, Claudia v., 1937: Ionenantagonismus und Giftwirkungen an *Spirogyra*. I. Über Ionenantagonismus ein- und zweiwertiger Kationen und deren Giftwirkung auf *Spirogyra*-Zellen. *Biologia generalis* 13, 529.
- Frey-Wyssling, A., 1935: Die Stoffausscheidung der höheren Pflanzen. Berlin.
- 1938: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. *Protoplasma-Monographie* 15. Berlin.
- 1948: Submicroscopic morphology of protoplasm and its derivatives. Elsevier publ. comp. New York, Amsterdam, London, Brussels.
- Gertler, L., 1932: Cyanophyceae. Rabenhorsts Kryptogamenflora, 2. Aufl., Bd. 14.
- Germ, H., 1932: Untersuchungen über die systrophische Inhaltsverlagerung in Pflanzenzellen nach Plasmolyse. I. *Protoplasma* 14, 566.
- 1933: desgl. II. *Protoplasma* 17, 509.
- Harnisch, O., 1929: Biologie der Moore. Die Binnengewässer, Bd. 7. Stuttgart.
- Heilbrunn, L. V., 1928: The colloid chemistry of protoplasm. *Protoplasma-Monographie* 1.
- 1927: The colloid chemistry of protoplasm. V. A preliminary study of the surface precipitation reaction of living cells. *Arch. exp. Zellforschung* 4, 246.
- 1943: An outline of general physiology. 2.ed. Philadelphia.
- Höfler, K., 1930: Über Eintritts- und Rückgangsgeschwindigkeit der Plasmolyse und eine Methode zur Bestimmung der Wasserpermeabilität des Protoplasten. *Jahrb. wiss. Bot.* 73, 300.
- 1931: Das Permeabilitätsproblem und seine anatomischen Grundlagen. Mikrchirurgische Versuche zum Hautschichtenproblem. *Ber. d. d. Bot. Ges.* 49, (79).
- 1932 a: Zur Tonoplastenfrage. *Protoplasma* 15, 462.
- 1932 b: Plasmolyseformen bei *Chaetomorpha* und *Cladophora*, *Protoplasma* 16, 189.
- 1934: Permeabilitätsstudien an Stengelzellen von *Majanthemum bifolium*. *Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Abt. I*, 143, 213.
- 1942: Einige Beobachtungen an *Closterium Dianae* und *Pleurotaenium nodulosum*. *Protoplasma* 37, 283.
- 1947: Was lehrt die Fluoreszenzmikroskopie von der Plasmapermeabilität und Stoffspeicherung? *Mikroskopie* 2, 13.
- 1948: Einige Nekrosen bei Färbung mit Akridinorange. *Sitzungsber. Österr. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I*, 156, 585.
- 1949: Über Wasser- und Harnstoffpermeabilität des Protoplasmas. *Phyton* 1, 103.
- und Schindler, H., 1951: Vitalfärbung von Algenzellen mit Toluidinblaulösungen gestufter Wasserstoffionenkonzentration. *Protoplasma* 40, 137.
- und Stiegler, A., 1930: Permeabilitätsverteilung in verschiedenen Geweben der Pflanze. *Protoplasma* 9, 469.

- Hofmeister, L., 1940: Studien über Mikroinjektion an Pflanzenzellen, Zeitschr. wiss. Mikroskopie 57, 294.
- Huber, B., und Höfler, K., 1950: Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Jahrb. wiss. Bot. 73, 351.
- Kerr, Th., 1933: The injection of certain salts into the protoplasm and vacuoles of the root hairs of *Limnium spongia*. Protoplasma 18, 420.
- Klebs, G., 1886: Über die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten. Unters. Bot. Inst. Tübingen 1, 333.
- Kopetzky-Rechtperg, O. v., 1931: Über die Kristalle in den Zellen der Gattung *Closterium* Nitzsch (Desmidiaceae). Beih. Bot. Centralbl., 1. Abt., 47, 291.
- Krebs, I., 1952: Zur Kenntnis des Desmidiaceen-Protoplasten. I. Osmotischer Wert, Permeabilität, Plastidenkonsistenz. In Vorb.
- Krieger, W., 1953 f: Die Desmidiaceen Europas mit Berücksichtigung der außer-europäischen Arten. Rabenhorsts Kryptogamenflora, Bd. XIII. Abt. 1.
- Kuchar, K., 1950: Plasmolyseformverlauf und Trichomzerfall bei zwei Oscillatarien. Phyton 2, 215.
- Küster, E., 1929: Pathologie der Pflanzenzelle. I., Pathologie des Protoplasmas. Protoplasma-Monographien 3
- 1935: Die Pflanzenzelle. Jena.
- Lepeschkin, W. W., 1938: Kolloidchemie des Protoplasmas. 2. Aufl. Wiss. Forschungsberichte 47, Dresden und Leipzig.
- Molisch, H., 1895: Die Ernährung der Algen (Süßwasseralgen). I. Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Abt. I, 104, 783.
- 1896: desgl. II. Ebenda 105, 633.
- 1916: Beiträge zur Mikrochemie der Pflanze, Nr. 5. Über den Nachweis von gelösten Kalkverbindungen mit Soda. Ber. d. d. Bot. Ges. 34, 288.
- 1923: Mikrochemie der Pflanze. 5. Aufl. Jena.
- Plowe, J. Q., 1931: Membranes in the plant cell. I. Morphological membranes at protoplasmic surfaces. Protoplasma 12, 196.
- 1931 b: Membranes in the plant cell. II. Localization of differential permeability in the plant protoplast. Protoplasma 12, 221.
- Pringsheim, E., 1918: Die Kultur der Desmidiaceen. Ber. deutsch. Bot. Ges. 36, 482.
- 1926: Über das Ca-Bedürfnis einiger Algen. Planta 2, 535.
- 1930: Die Kultur von Micrasterias und Volvox. Arch. f. Protistenkunde 72, 1.
- Redinger, V., 1934: Zur Ökologie der Schlenken in den Mooren des Lunzer Obersees. Beih. Bot. Centralbl. 52, 232.
- Reuter, L., 1948: Zur protoplasmatischen Anatomie des Keimblattes von *Soja hispida*. Ein Beitrag zur Protoplasmatik ernährungsphysiologisch differenter Zellzustände. Österr. Bot. Zeitschr. 95, 373.
- 1949: Protoplasmatische Pflanzenanatomie. Sammelreferat. Phyton 1, 229.
- Ruttner, F., 1940: Grundriß der Limnologie (Hydrobiologie des Süßwassers). W. de Gruyter, Berlin.
- Schindler, H., 1938: Tötungsart und Absterbebild. II. Der Säuretod der Pflanzenzelle. Protoplasma 30, 547.
- Seifriz, W., 1936: Protoplasma. Philadelphia.
- and Plowe, J., 1931: The effects of salts on the extensibility of protoplasm. Journal of Rheology 2, vgl. Referat Protoplasma 15, 484.
- Stiles, W., 1924: Permeability. New Phytologist Reprint, Nr. 13, London.
- 1950: An introduction to the principles of plant physiology. 2.ed.

- Stiegler, A., 1950: Vitalfärbung an Pflanzenzellen mit Cresylechtviolett. *Protoplasma* 39, 493.
- Strugger, S., 1951: Zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Erythrosin. *Ber. deutsch. Bot. Ges.* 49, 453.
- 1952: Über Plasmolyse mit Kaliumrhodanid. *Ber. deutsch. Bot. Ges.* 50, 24.
- 1949: *Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze*. 2. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg.
- Terry, R. L., 1950: The surface precipitation reaction in the ovarian frog egg *Protoplasma* 39, 206.
- Thienemann, A., 1950: Verbreitungsgeschichte der Süßwassertierwelt Europas. Die Binnengewässer, Bd. 18. Stuttgart.
- Tirol, M., 1933: Untersuchungen über das Plasmolyseverhalten von *Vaucheria*. *Protoplasma* 18, 345.
- Umrath, K., 1932: Die Bildung des Plasmalemmas (Plasmahaut) bei *Nitella mucronata*. *Protoplasma* 16, 173.
- de Vries, H., 1885: Plasmolytische Studien über die Wand der Vakuolen. *Jahrb. wiss. Bot.* 16, 465.
- Warén, H., 1926: Nahrungsphysiologische Versuche an *Micrasterias rotata*. *Soc. Scient. Fennica. Comm. Biol.* II, 8, 1.
- 1933: Über die Rolle des Calciums im Leben der Zelle auf Grund von Versuchen an *Micrasterias*. *Planta* 19, 1.
- 1936: Über das Calciumbedürfnis der niederen Algen. *Planta* 25, 460.
- Weber, F., 1924: Protoplasma-Viskosität kopulierender *Spirogyren*. *Ber. deutsch. Bot. Ges.* 42, 279.
- 1929 a: Plasmolyse-Ort. *Protoplasma* 7, 583.
- 1929 b: Protoplasmatische Pflanzenanatomie. *Protoplasma* 8, 291.
- 1931 a: Harnstoffpermeabilität ungleich alter *Spirogyra*-Zellen. *Protoplasma* 12, 129.
- 1931 b: Plasmolyseresistenz und -permeabilität bei Narkose. *Protoplasma* 14, 179.
- 1932 a: Plasmalemma oder Tonoplast? *Protoplasma* 15, 453.
- 1932 b: Plasmolysepermeabilität bei Kälte. *Ebd.* 15, 517.
- 1932 c: Plasmolyse und „Surface precipitation reaction“. *Ebd.* 15, 522.
- 1933: Alkohol-Resistenz ungleich alter *Spirogyra*-Zellen. *Ebd.* 20, 15.
- 1934: Plasmalemma-Zerstörung und Tonoplasten-Bildung. *Ebd.* 21, 424.
- West, W. and G. S., 1904—1912: A Monograph of the British *Desmidiaceae*. Vol. I—IV. London.
- Wiesner, G., 1951: Untersuchungen über Vitalfärbung von *Allium*-Zellen mit basischen Hellfeldfarbstoffen. *Protoplasma* 40, 405.

# Spaltöffnungszahl und Heteroauxin

Von

**Maria Kropfisch**

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz)

Mit 3 Textabbildungen

(Eingelangt am 6. März 1951)

In Versuchen mit *Neptunia plena* und *Tradescantia fluminensis* hat Umrath (1948) festgestellt, daß Heteroauxin, während der Blattentwicklung in geeigneter Konzentration zugeführt, die Ausbildung der Stomata stark beeinflusst. In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung des Heteroauxins auf die Bildung der Spaltöffnungen von *Vicia Faba* untersucht und zwar sowohl an Licht-, als auch an etiolierten Dunkelkeimlingen.

## A. Lichtkeimlinge

### Versuchsmethode:

Acht Tage alte Keimlinge mit Wurzellängen von durchschnittlich 1½ cm wurden in 100 cm<sup>3</sup> Glaskolben gezogen, die mit lichtundurchlässigem Papier verkleidet waren, um den Wuchsstoff-inaktivierenden Einfluß des Lichtes auf die Lösung auszuschalten. Die Kontrollen wuchsen in Knop'scher Nährlösung, für die Versuchspflanzen wurde dieser Heteroauxin in verschiedener Konzentration zugesetzt. Die Lösungen wurden wöchentlich 2—3mal durch frisch hergestellte erneuert.

### V Versuchsergebnisse:

Die folgenden Durchschnittswerte der Keimlingsgrößen errechnen sich aus 6 und die Stomata-Zahlen aus ca. 30 Einzelwerten von je sechs gleichbehandelten Pflanzen (3 Versuchsreihen).

Tabelle 1. Alter der Keimlinge: 8 Tage auf feuchtem Filterpapier vorgekeimt, 18 Tage in Nährlösungen weiterkultiviert.

Heteroauxin-konzentration	Sproßlänge in Zentimeter	Größe des 2. Primärblattes in Quadratzentimeter
1 : 10 <sup>7</sup>	22	13,6
1 : 10 <sup>6</sup>	17	11,2
1 : 10 <sup>5</sup>	15,5	10,8
1 : 10 <sup>4</sup>	14,5	7,6
Kontrollen	20	13

Die Keimlinge, die in Nährlösungen mit ganz geringen Zugaben von Heteroauxin wuchsen, wurden in ihrem Längenwachstum und in ihrer Blattentwick-

lung gefördert, während stärkere Konzentrationen deutliche Hemmungen bewirkten. Im letzteren Falle waren die Internodien etwas verdickt, die Beiwurzelbildung so stark gefördert, daß bei einer Konzentration des Wuchsstoffes von  $1:10^4$  das Epiblem der Hauptwurzel streckenweise gesprengt wurde.

Die mikroskopische Untersuchung der Epidermis ergab eine deutliche Beeinflussung der Epidermisdifferenzierung (Stomata-Zahl) durch Heteroauxin:

Tabelle 2. Stomata-Zahl: 2. Primärblatt:

Heteroauxinkonzentration	Stomata pro Quadratmillimeter	Stomata pro Blattfläche
$1:10^7$ Oberseite	77	104 720
Unterseite	98	133 280
$1:10^6$ Oberseite	110	123 200
Unterseite	162	181 440
$1:10^5$ Oberseite	112	120 960
Unterseite	151	163 080
$1:10^4$ Oberseite	138	104 880
Unterseite	178	135 280
Kontrolle		
Oberseite	76	98 800
Unterseite	102	132 600

Schon die Spaltöffnungszahl pro  $\text{mm}^2$  zeigt eine Zunahme mit steigender Heteroauxinkonzentration. Bei einer Wuchsstoffgabe von  $1:10^7$  stimmen die Stomatazahlen noch annähernd mit den Kontrollwerten überein, bei einer Konzentration von  $1:10^4$  sind sie bereits auf das eineinhalb- bis zweifache angestiegen. (Abb. 1 a.)

Die Zahl der Spaltöffnungen auf der gesamten Blattfläche ist anders zu beurteilen. Der hemmende Einfluß auf das Flächenwachstum der Blattspreite bei zunehmender Heteroauxinkonzentration überwiegt so stark, daß die Stomata-Zahlen pro Blattfläche nicht im gleichen Maße erhöht sind wie die Werte pro  $\text{mm}^2$ , jedoch ist die Gesamtzahl der Spaltöffnungen in der Epidermis mit Wuchsstoff behandelter Blätter stets größer als die der Kontrollpflanzen.

Tabelle 3. Relation Spaltöffnungen: Epidermiszellen (2. Primärblatt).

Heteroauxinkonzentration	Oberseite	Unterseite
$1:10^7$	1:2,4	1:1,7
$1:10^6$	1:2,1	1:1,4
$1:10^5$	1:2	1:1,5
$1:10^4$	1:1,9	1:1,3
Kontrolle	1:2,4	1:1,8

Die relativen Spaltöffnungszahlen verhielten sich also analog den Stomatazahlen pro  $\text{mm}^2$ . Es zeigte sich eine bedeutende Begünstigung der Spaltöffnungsentwicklung durch H.A.-Gaben, eine Änderung der Relation zugunsten der Spaltöffnungen mit zunehmender Dosierung.

In obige Tabellen nicht aufgenommen wurden Werte, die sich aus der Untersuchung eines



einzelnen Keimlings ergaben, der bei einer noch höheren Heteroauxinkonzentration ( $1:2 \cdot 10^3$ ) gezogen wurde. Neben einer bedeutenden Wachstums-

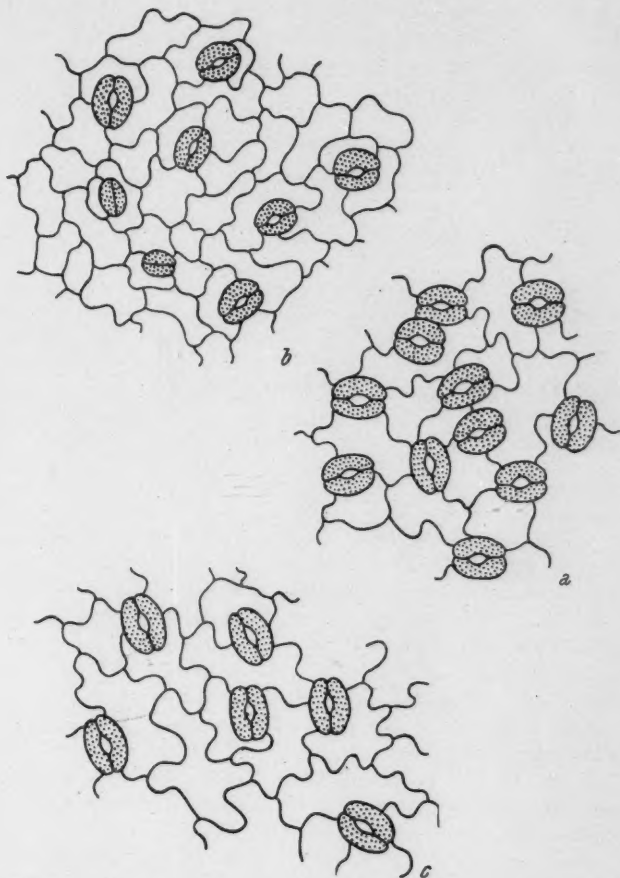


Abb. 1. *Vicia Faba* Lichtkeimling, 2. Primärblatt, untere Epidermis. a) Kultiviert in Nährlösung mit H. A.  $1:10^4$ ; b) kultiviert in Nährlösung mit H. A.  $1:2 \times 10^3$ ; c) kultiviert in Nährlösung ohne H. A. (Kontrolle).

hemmung zeigte sich ein sehr nachteiliger Einfluß dieser Konzentration auf die Stomataentwicklung: Am zweiten Primärblatt verhielt sich die Zahl der Stomata zu der der Epidermiszellen wie  $1:4,6$ . (Abb. 1b.)

An Spaltöffnungsanomalien wurden mit großer Häufigkeit Zwillingsmitunter Drillingsbildungen beobachtet, seltener stecken gebliebene Entwicklungsstadien (Persistierende Spaltöffnungsmutterzellen).

### B. Etiolierte Keimlinge

Im Zuge anatomischer Untersuchungen an etiolierten Keimlingen von *Vicia Faba* hat Kolda (1937) festgestellt, daß im Dunklen in der Blattepidermis zwar zahlreiche Zellteilungen stattfinden, daß jedoch die Differenzierung der Zellen weitgehend unterbleibt. Die Zahl der Spaltöffnungen ist sehr gering, auf der Oberseite fehlen sie vollkommen. Nachdem Kolda nicht angab, ob es sich bei den von ihr untersuchten Blättern um Primär- oder Folgeblätter handelte und da sie aus ihren Ergebnissen keine weiteren Schlüsse zog, war es zunächst notwendig, eingehendere Untersuchungen an derselben Pflanze anzustellen.

#### Versuchsmethode:

Die Keimlinge wurden in Töpfen im Glashaus unter Glasstürzen bei ausgeglichenen Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen gezogen, ein Teil der Kulturen mit einem lichtundurchlässigen Kartonsturz überstülpt. Die *Vicia Faba*-Keimlinge hatten zu Beginn der anatomischen Untersuchung durchschnittlich ein Alter von 30 Tagen (gerechnet vom Tage der Aussaat). Für die mikroskopische Untersuchung wurden Flächenschnitte der Blattober- und -unterseite hergestellt und zwar jeweils aus derselben Blattregion. Die Durchschnittswerte errechnen sich aus ca. 80 Einzelwerten von je 10 Keimlingen.

#### Versuchsergebnisse:

Die etiolierten Keimlinge wiesen zwar stark gestreckte Internodien auf, blieben jedoch in ihrer Gesamtentwicklung weit hinter den Lichtkontrollen zurück. Sie hatten weniger Blätter ausgebildet als die gleichaltrigen Lichtkeimlinge, die Blattspreiten erreichten nur geringe Größen (im Durchschnitt  $\frac{1}{8}$  bis  $\frac{1}{4}$  der Fläche des Kontrollblattes). Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß entgegen der Angabe Kolda's nicht nur die Unter-, sondern auch die Oberseite aller untersuchten Blätter Spaltöffnungen trägt. Die Differenzierung der Epidermis und Entwicklung der Stomata geht beim Dunkelkeimling bedeutend langsamer vor sich, als bei dem, der im natürlichen Licht aufwächst. Am 2. und 3. Primärblatt etiolierter Keimlinge fiel ein zunehmender Prozentsatz an unfertigen Spaltöffnungen auf, die jedoch auch dann, wenn die Spalte, bzw. die Trennungswand noch fehlte, deutlich als Stomata-Anlagen zu erkennen waren. Während das zweite Primärblatt der Kontrollpflanze durchwegs funktionsfähige Spaltöffnungen trug, kamen in der Epidermis des dunkel gehaltenen Blattes auf eine fertig ausgebildete Spaltöffnung an der Unterseite 12, an der Oberseite 45 frühe Entwicklungsstadien. Diese Werte zeigen auch, daß die Blattoberseite in ihrer Entwicklung etwas nachhinkt, eine Feststellung, die nicht nur an Dunkelkeimlingen gemacht wurde, sondern auch für Lichtpflanzen gilt. Diese Entwicklungsverzögerung der oberseitigen Spaltöffnungen mag eine Erklärung dafür geben, weshalb Kolda die Blattoberseite stomatafrei fand.

In diesem Zusammenhang muß auch die Haarbildung Berücksichtigung finden. Nach Bünning (1948) verhindert die Hemmzone um eine Spaltöffnungsinitiale auch die Entstehung eines Haares und dieses selbst wiederum bildet um sich eine Hemmzone, die nicht nur die Entstehung weiterer Haare, sondern auch die Bildung von Spaltöffnungen unterdrückt. Kolda gab für *Vicia Faba* an, daß die Oberseite der

etiolierten Blätter spaltöffnungsfrei, jedoch die ganze Epidermis mit keulenförmigen, mehrzelligen Haaren besetzt sei. Man könnte nun an eine Verminderung der Stomatazahl zugunsten einer geförderten Haarentwicklung denken. Betrachtet man jedoch vergleichsweise die sehr junge Epidermis des Blattes einer Lichtpflanze, so findet man inmitten eines undifferenzierten, aus polygonalen Zellen bestehenden Gewebes vollständig ausgebildete Haare, die auf Grund der Kleinheit der dazwischengeschalteten Epidermiszellen eng beieinander liegen und daher im Gesichtsfeld gehäuft erscheinen. Dieses Bild entspricht genau jenem, das Kolda für die Oberseite der etiolierten Blätter entwirft, es handelte sich also offenbar um junges Material, bei dem die Differenzierung der Epidermis noch nicht abgeschlossen war, die Haare jedoch, die in ihrer Entwicklung vorausseilen, bereits definitiv ausgebildet waren.

Das gehäufte Auftreten von Spaltöffnungen und Haaren in der Nähe von Blattrippen, wie es Kolda beschreibt, wurde für sehr junge Epidermen bestätigt. Die Haare sind auch an Blättern, die in ihrer Entwicklung bereits abgeschlossen sind entlang den Blattrippen besonders zahlreich. Für die Stomata trifft dies nicht zu, — das heißt: Die Spaltöffnungen erfahren in diesen Regionen wohl früh eine Entwicklungsbeschleunigung, eine Anhäufung in unmittelbarer Umgebung der Blattrippen findet jedoch nicht statt.

Tabelle 4. Spaltöffnungszahl dauernd dunkel gehaltener Keimlinge.

	Stomata pro Quadratmillimeter	Stomata pro Blattfläche
a) Dunkelkeimlinge:		
1. Primärblatt		
Oberseite . . . .	161	67 620
Unterseite . . . .	206	86 520
2. Primärblatt		
Oberseite . . . .	164	59 040
Unterseite . . . .	205	73 800
3. Primärblatt		
Oberseite . . . .	168	47 040
Unterseite . . . .	202	56 560
b) Lichtkeimlinge:		
1. Primärblatt		
Oberseite . . . .	43	78 260
Unterseite . . . .	56	101 920
2. Primärblatt		
Oberseite . . . .	44	85 360
Unterseite . . . .	59	119 280
3. Primärblatt		
Oberseite . . . .	54	90 720
Unterseite . . . .	71	119 280

Die durchwegs unverzählten Epidermiszellen etiolierter Blätter blieben kleiner als die der Kontrollkeimlinge, wodurch die Stomata enger nebeneinander lagen und sich eine Erhöhung ihrer Zahl pro mm<sup>2</sup> ergab. Diese Werte sagen aber über eine Förderung bzw. Hemmung der Stomatabildung nichts aus. Die Gesamtzahl der Spaltöffnungen in der Blattepidermis erhöht sich

bei den Lichtkeimlingen um ein Geringes, während man an etiolierten Keimlingen mit der Insertionshöhe eine deutliche Abnahme von Blatt zu Blatt beobachten kann. Das 3. Primärblatt eines Dunkelkeimlings besitzt nur mehr halb so viel Stomata wie das gleichalte Blatt der Lichtkontrolle. In gleicher Weise ändert sich die Relation Stomata : Epidermiszellen; dies zeigt, daß die Differenzierungsfähigkeit der Epidermis etiolierter Blätter mit ihrer Insertionshöhe am Sproß abnimmt (Tab. 5) (Abb. 2, 3).

Tabelle 5. Spaltöffnungen : Epidermiszellen.

	Lichtkeimlinge		Dunkelkeimlinge	
	Oberseite	Unterseite	Oberseite	Unterseite
1. Primärblatt . . .	1:2,7	1:1,9	1:3,2	1:2,3
2. Primärblatt . . .	1:2,4	1:1,8	1:3,5	1:3
3. Primärblatt . . .	1:2,3	1:1,6	1:4,4	1:3,9

Spaltöffnungszahl an Blättern etiolierter, periodisch belichteter Keimlinge.

Kolda (1937) fand, daß bei kurzer täglicher Belichtung die Stomatabeldung etiolierter Keimlinge beträchtlich zunimmt und Epidermen von Blättern, die täglich zwei Stunden belichtet wurden, dicht mit funktionierenden Spaltöffnungen besetzt sind. In Wiederholung dieser Versuche wurden Keimlinge von *Vicia Faba* periodisch natürlichem Licht ausgesetzt und zwar täglich eine halbe, eine, zwei oder vier Stunden.

Das Längenwachstum des Sprosses der belichteten Keimlinge erfuhr eine Hemmung, die sich mit der Dauer der Belichtung steigerte, das Flächenwachstum der Blattspreiten jedoch wurde in steigendem Maße gefördert.

Schon bei einer täglich halbstündigen Belichtung fanden sich in der Epidermis des zweiten Primärblattes durchwegs fertig entwickelte Stomata, während die vollständig dunkel gehaltenen Blätter noch einen großen Prozentsatz unfertiger Stomata aufwiesen. Es wurde jedoch nicht nur die Ausbildung der Stomata durch die Belichtung beschleunigt, sondern auch das Entstehen von Spaltöffnungen in der Blattepidermis begünstigt.

Für das 2. Primärblatt ergibt sich bei einer Belichtung von täglich einer Stunde eine wesentliche Erhöhung der absoluten und relativen Spaltöffnungszahl. Die Blattepidermis der Keimlinge, die täglich zwei Stunden belichtet wurden, unterschied sich darin von der der Lichtkeimlinge, daß die Zellwände wenig gewellt waren; die Stomatazahlen stimmten nahezu mit den Kontrollwerten überein.

Während an dauernd dunkel gehaltenen Blättern eine deutliche Abnahme der Spaltöffnungszahl von Blatt zu Blatt zu bemerken war, trat diese bei kurzzeitig belichteten Keimlingen nicht so markant zutage.

Die Gesamtzahl der Stomata und die Relation Spaltöffnungen : Epidermiszellen ändert sich an belichteten Blättern mit der Insertionshöhe am Sproß nur unwesentlich, mitunter ist die Spaltöffnungszahl eines höher inserierten Blattes sogar gegenüber dem nächst älteren erhöht.

Tabelle 6. Spaltöffnungszahl des 2. Primärblattes.

Belichtungsdauer	Stomata pro Quadratmillimeter	Stomata pro Blattfläche
Dauernd verdunkelt		
Oberseite . . . . .	164	59 040
Unterseite . . . . .	205	73 800
Täglich 1 Stunde belichtet		
Oberseite . . . . .	102	73 440
Unterseite . . . . .	138	99 360
Täglich 2 Stunden belichtet		
Oberseite . . . . .	82	83 640
Unterseite . . . . .	102	108 120
Lichtkontrolle		
Oberseite . . . . .	44	85 360
Unterseite . . . . .	59	114 460

Tabelle 7. Relation Spaltöffnungen : Epidermiszellen  
(2. Primärblatt).

	Dauernd verdunkelt	1 Std. tägl. belichtet	2 Std. tägl. belichtet	Licht- kontrolle
Oberseite . . . . .	1:3,5	1:2,6	1:2,6	1:2,3
Unterseite . . . . .	1:2,6	1:2,2	1:1,9	1:1,8

Tabelle 8. Stomatazahl.

	Dauernd verdunkelt		Täglich 1 Std. belichtet	
	Oberseite	Unterseite	Oberseite	Unterseite
Stomata pro Quadrat- millimeter				
1. Primärblatt . . . . .	161	206	98	132
2. Primärblatt . . . . .	164	205	102	138
3. Primärblatt . . . . .	168	202	118	152
Stomata pro Blattfläche				
1. Primärblatt . . . . .	67 620	86 520	74 480	100 320
2. Primärblatt . . . . .	59 040	73 800	73 440	99 360
3. Primärblatt . . . . .	47 040	56 540	75 520	97 280
Relation				
Stomata : Epidermiszellen				
1. Primärblatt . . . . .	1:3,2	1:2,3	1:2,3	1:2
2. Primärblatt . . . . .	1:3,5	1:3	1:2,6	1:2,2
3. Primärblatt . . . . .	1:4,2	1:3,8	1:2,6	1:2,4

## Heteroauxinwirkung auf Dunkelkeimlinge.

Die Keimlinge wurden, abgesehen von der Verdunkelung, genau so wie die Lichtkeimlinge in Knop'scher Nährlösung mit oder ohne Heteroauxinzusatz gezogen.

Tabelle 9.

	Kontrolle	Heteroauxinkonzentration		
		1 : 10 <sup>6</sup>	1 : 10 <sup>5</sup>	1 : 10 <sup>4</sup>
Sproßlänge . . . . .	28 cm	24,5 cm	32 cm	21,5 cm
Blattgrößen				
1. Primärblatt . . . . .	1,1 mm <sup>2</sup>	1,6 mm <sup>2</sup>	2,2 mm <sup>2</sup>	0,9 mm <sup>2</sup>
2. Primärblatt . . . . .	1,3 mm <sup>2</sup>	2,3 mm <sup>2</sup>	3,5 mm <sup>2</sup>	0,9 mm <sup>2</sup>
3. Primärblatt . . . . .	1,1 mm <sup>2</sup>	2,4 mm <sup>2</sup>	3,3 mm <sup>2</sup>	1,2 mm <sup>2</sup>

Bei einer H.A.-Gabe von 1 : 10<sup>6</sup> war das Längenwachstum des Sprosses etwas gehemmt, das Wachstum der Blattspreiten gefördert. Eine Konzentration von 1 : 10<sup>5</sup> begünstigte sowohl die Entwicklung der Blattspreite als auch die des Sprosses, stärkere Dosen bewirkten allgemein Wachstumshemmung. Die Internodien der Keimlinge, die in hochkonzentrierten Wuchsstofflösungen kultiviert wurden, waren stark verdickt, die Entwicklung von Beiwurzeln im gleichen Maße gefördert wie bei den Lichtkeimlingen.

Bei der Berechnung der Stomatazahlen interessierte in erster Linie, ob sich auch bei den H. A.-behandelten Dunkelkeimlingen die Zahl der Spaltöffnungen von Blatt zu Blatt verringert und es wurden daher alle entwickelten Blätter untersucht.

Tabelle 10. Spaltöffnungen pro mm<sup>2</sup>.

	Kontrolle	Heteroauxinkonzentration		
		1 : 10 <sup>6</sup>	1 : 10 <sup>5</sup>	1 : 10 <sup>4</sup>
1. Primärblatt				
Oberseite . . . . .	255	176	167	209
Unterseite . . . . .	264	211	204	236
2. Primärblatt				
Oberseite . . . . .	198	263	243	245
Unterseite . . . . .	218	323	284	346
3. Primärblatt				
Oberseite . . . . .	226	243	233	256
Unterseite . . . . .	253	281	276	377

Die Spaltöffnungszahlen pro mm<sup>2</sup> sagen in diesem Falle über eine Beeinflussung der Epidermisdifferenzierung durch künstliche Wuchsstoffzufuhr nichts aus. Die Maxima liegen für die einzelnen Blätter bei verschiedenen Konzentrationen, weil die Blattspreiten in verschiedenem Maße Wachstumshemmung bzw. -förderung erfahren, die Epidermiszellen daher verschieden groß sind und die Stomata dementsprechend näher beieinander liegen oder weiter



auseinander rücken. Die Gesamtzahl der in der Blattepidermis ausgebildeten Spaltöffnungen gibt ein einheitlicheres Bild.

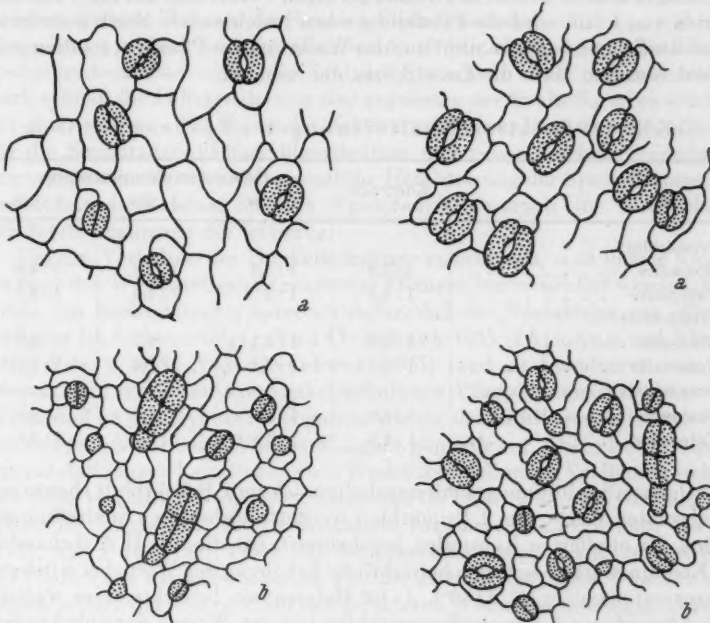


Abb. 2. *Vicia Faba* Dunkelkeimling.  
a) 1. Primärblatt, untere Epidermis;  
b) 3. Primärblatt, untere Epidermis.

Abb. 3. *Vicia Faba* Dunkelkeimling.  
a) 1. Primärblatt, obere Epidermis;  
b) 3. Primärblatt, obere Epidermis.

Tabelle 11. Spaltöffnungszahl pro Blattfläche.

	Kontrolle	Heteroauxinkonzentration		
		1:10 <sup>6</sup>	1:10 <sup>5</sup>	1:10 <sup>4</sup>
1. Primärblatt				
Oberseite . . . . .	27 950	28 480	36 740	18 450
Unterseite . . . . .	29 040	33 760	44 880	21 240
2. Primärblatt				
Oberseite . . . . .	25 740	60 490	85 050	22 050
Unterseite . . . . .	28 340	74 290	99 400	31 140
3. Primärblatt				
Oberseite . . . . .	24 860	58 340	76 890	29 720
Unterseite . . . . .	27 830	67 440	91 080	45 240

Die optimale Konzentration für die Stomataentwicklung liegt offenbar bei 1:10<sup>5</sup>, der Dosis, die für etiolirte *Vicia Faba*-Keimlinge allgemein die günstigsten Entwicklungsbedingungen schafft. Am 1. Primärblatt sind die Unter-

schiede nicht bedeutend; die Werte, die sich für eine Konzentration von  $1:10^6$  Heteroauxin ergeben, stimmen annähernd mit den Kontrollwerten überein, es kommt höchstens zu einer geringen Förderung; bei einer Konzentration von  $1:10^5$  wird die Förderung schon bedeutender. Stark gesteigerte Wuchsstoffgaben hemmen nicht nur das Wachstum der Pflanzen, sondern auch in bedeutendem Maße die Entwicklung der Stomata.

Tabelle 12. Relation Spaltöffnungen : Epidermiszellen.

	Kontrolle	Heteroauxinkonzentration		
		$1:10^6$	$1:10^5$	$1:10^4$
1. Primärblatt				
Oberseite . . . . .	1:3,9	1:3,2	1:2,9	1:4,6
Unterseite . . . . .	1:3,6	1:2	1:1,6	1:3,7
2. Primärblatt				
Oberseite . . . . .	1:4,2	1:3,1	1:2,7	1:4,4
Unterseite . . . . .	1:3,8	1:2,4	1:2,4	1:2,7
3. Primärblatt				
Oberseite . . . . .	1:4,9	1:4	1:3,8	1:4,7
Unterseite . . . . .	1:4,3	1:3,9	1:2,7	1:3,3

Die relativen Spaltöffnungszahlen verhalten sich am 1. Primärblatt ebenso wie die absoluten Werte. Am 2. Primärblatt werden die absoluten Spaltöffnungszahlen der etiolierten Kontrollen herabgesetzt, für die mit H. A. behandelten Keimlinge zeigte sich eine beträchtliche Erhöhung der Werte bei mittleren Konzentrationen ( $1:10^5$ ,  $1:10^6$ ).  $1:10^4$  Heteroauxin bewirkte keine wesentliche Abweichung der Spaltöffnungszahlen von den Werten der unbehandelten Kontrollen. Die Verhältniswerte Spaltöffnungen : Epidermiszellen zeigen am 2. Primärblatt eine Verschiebung zugunsten der Stomatazahl gegenüber dem 1. Primärblatt bei den Heteroauxin-behandelten Pflanzen, eine Verschiebung zugunsten der Epidermiszellen bei den unbehandelten Kontrollen. Am 3. Primärblatt nimmt die Stomatazahl gegenüber dem 2. Primärblatt nicht nur bei den Kontrollen, sondern auch bei den in Heteroauxinlösungen kultivierten Keimlingen ab.<sup>1</sup>

Es ist bekannt, daß das Optimum der Heteroauxin-Wirkung für einzelne Organe (Wurzel und Sproß) bei verschiedenen Konzentrationen liegt. Es zeigte sich im Laufe der vorliegenden Versuche, daß auch für das Wachstum

<sup>1</sup> Es geht aus diesen Ergebnissen klar hervor, daß eine experimentelle Beeinflussung des Wuchsstoffgehaltes durch das Verhältnis der Zahl der Spaltöffnungen zu der der Epidermiszellen weit besser erfaßt wird, als durch die Zahl der Spaltöffnungen pro mm<sup>2</sup>. Aus einer Bemerkung Umraths (1948, 267) geht hervor, daß er an den Blättern von mit Heteroauxin behandelten *Tradescantia*-Sprossen gelegentlich entsprechendes beobachtet hat. Er ist im allgemeinen bei der Bestimmung der Spaltöffnungszahl pro mm<sup>2</sup> verblieben, weil sie, mit dem Okularraster ausgeführt, weniger zeitraubend ist und weil ihm an Blättern verschiedenen Dornigkeitsgrades von *Berberis vulgaris* die Anzahl der Spaltöffnungen pro mm<sup>2</sup> ein besseres Bild des Dornigkeitsgrades zu geben schien, als die Anzahl der Spaltöffnungen dividiert durch

des Sprosses und Blattes von *Vicia Faba* einerseits und die Differenzierung der Blattepidermis (Stomata-Bildung) andererseits, verschiedene Heteroauxin-Optima bestehen. Geringe Wuchsstoffgaben, die das Längenwachstum des Sprosses fördern, üben auf die Stomata-Bildung keinen Einfluß aus, während Heteroauxin in einer Konzentration von  $1:10^4$ , die allgemein auf die Pflanze wachstumshemmend wirkt, die Zahl der Stomata in der Epidermis relativ stark erhöht, die Differenzierung also zugunsten der Spaltöffnungen fördert. Bei einer weiteren Erhöhung der Konzentration wurde auch das Optimum für die Stomataentwicklung überschritten und neben starken Wachstumshemmungen macht sich eine wesentliche Herabsetzung der Spaltöffnungszahl bemerkbar, die Relation Stomata: Epidermiszellen ergab eine Verschiebung der Werte zugunsten der letzteren.

Um das Verhalten der Dunkelkeimlinge zu erklären, muß unsere Kenntnis über den Wuchsstoffgehalt etiolierter Pflanzen berücksichtigt werden. Eine Reihe von Beobachtungen sprechen dafür, daß die Neubildung von Wuchsstoff nur im Lichte erfolgt. (Van Overbeek 1933, Thimann und Skoog 1934, Avery 1935.) Van Overbeek (1935) fand an Keimlingen von *Raphanus*, daß die Keimlinge dunkel gehaltener Pflanzen zunächst ebensoviel Wuchsstoff an das Hypokotyl abgaben, wie die der Lichtkeimlinge, nach einiger Zeit jedoch hörte die Wuchsstoffabgabe gänzlich auf. Overbeek folgerte daraus, daß jungen Keimlingen zwei Wuchsstoffquellen zur Verfügung stehen: Der Reservewuchsstoff aus dem Samen und im Licht in den Kotyledonen neu gebildeter Wuchsstoff. Zu gleichsinnigen Ergebnissen kamen auch Navez (1935) und Pohl (1935, 1936). Mit zunehmendem Alter des Keimlings wird der Einfluß des Reservewuchsstoffes immer geringer und ältere Pflanzen sind ausschließlich von dem im Licht neu gebildeten Wuchsstoff abhängig. Aus der mit der Dauer der Verdunklung sich steigernden Abnahme des Wuchsstoffgehaltes erklärt sich wohl die starke Reduzierung der Zahl der Stomata in der Epidermis besonders der höher inserierten Blätter an den dauernd verdunkelten Keimlingen. Avery (1935) konnte an dunkel kultivierten Tabakpflanzen überhaupt keinen Wuchsstoff nachweisen, schon nach eintägigem Aufenthalt im Licht war jedoch die Wuchsstoffkonzentration im Sproßgipfel und in den Blättern wieder normal. Die Dunkelkeimlinge sind also offenbar schon bei kurzer Belichtung zur Wuchsstoffbildung befähigt. So läßt es sich verstehen, daß die Blätter der etiolierten *Vicia Faba*-Keimlinge, die täglich für kurze Zeit belichtet wurden, nicht nur in ihrem Wachstum begünstigt waren, sondern daß auch die Bildung der Stomata dabei eine Förderung erfuhr. Wenn nach Katunskij (1935) junge etiolierte Pflanzen einen übernormalen Wuchs-

die der Epidermiszellen. Beide gehen dem Dornigkeitsgrad nicht parallel, sondern haben bei einem gewissen Dornigkeitsgrad ein Maximum. Wenn sich die auf die Beobachtung an *Berberis* gegründete Vermutung Umraths an anderen natürlich gewachsenen Pflanzen bestätigen würde, so wäre zu erwägen, ob beim natürlichen Wachstum nicht Spaltöffnungszahl und Zahl der Epidermiszellen zu etwas verschiedenen Zeiten der Blattentwicklung festgelegt werden, in denen der Wuchsstoffgehalt verschieden sein kann. Solche Möglichkeiten diskutiert Umrath (1948, 274) für *Berberis vulgaris* und S. 281 für *Mahonia japonica* für verschiedene mit der Dornigkeit verbundene Eigenschaften der Blätter.

stoffgehalt zeigen, der sich durch periodische Belichtung vermindern ließ, so muß es sich in diesem Falle um den „Reservewuchsstoff“ handeln, der bei dunkel gehaltenen Keimlingen voll zur Wirkung kommt, während bei den Kontrollen unter dem Einfluß des Lichtes ein Teil des Wirkstoffes inaktiviert wird (Kögl 1937). Van Overbeek (1935) gibt für vier Tage alte Keimlinge an, daß sie ungefähr gleichviel Wuchsstoff enthalten wie etiolierte. Daraus folgert Bünning (1941), daß es auch Stadien geben müßte, in denen belichtete Keimlinge weniger Wuchsstoff enthalten als etiolierte. Es zeigte sich nun an den ersten Primärblättern der *Vicia Faba*-Keimlinge keineswegs eine erhöhte Stomatazahl. Bünning und Van Overbeek verwendeten durchwegs Versuchspflanzen mit ergrünenden Kotyledonen, während bei *Vicia Faba* diese nicht aus der Samenschale heraustreten. Es dauert relativ lange, bis ein junger Keimling das erste Primärblatt ausbildet und dessen differentielle Teilungen in der Epidermis abgeschlossen sind; in dieser Zeit ist der Lichtkeimling sicherlich bereits befähigt, neuen Wuchsstoff zu bilden.

Entsprechend dem sich verstärkenden Wuchsstoffmangel etiolierter Keimlinge muß auch die Wirkung des Heteroauxins, sofern es auf die Auxine aktivierend wirkt, verschieden sein. Es liegen Untersuchungen von Pohl (1934), Guttenberg und Segelitz (1938) und Koningsberger (1938) vor, die übereinstimmend ergaben, daß verdunkelte Keimlinge auf künstliche H. A.-Gaben gar nicht, oder in geringerem Maße als Lichtkeimlinge reagieren. An *Vicia Faba* ließ sich zunächst eine größere Empfindlichkeit der Keimlinge gegenüber den H. A.-Zugaben feststellen (siehe auch Zimmermann und Hitchcock 1936), die optimalen Konzentrationen stimmten für Wachstum und Stomatabildung überein und lagen für die letztere niedriger als bei den belichteten Pflanzen. Die Spaltöffnungsbildung des 2. Primärblattes wurde je nach den Konzentrationen gefördert oder gehemmt. Komplizierter liegen die Verhältnisse am 3. Primärblatt. Die absolute Stomatazahl pro Blattfläche nimmt zwar gegenüber dem 2. Primärblatt auch bei den mit Wuchsstoff behandelten Keimlingen ab, bleibt aber gegenüber den Kontrollwerten immer noch um das 2- bis 3fache erhöht. Wohl ist an diesen Blättern zu berücksichtigen, daß sie gegenüber den Kontrollen die 2- bis 3fache Fläche erreicht haben und die Stomatazahlen pro mm<sup>2</sup> ungefähr gleich sind. Vielleicht darf man folgende Annahme machen: Im 2. Primärblatt ist noch genügend aktivierbarer Wuchsstoff vorhanden, der unter der Einwirkung des Heteroauxins die Differenzierung der Epidermis fördert. Am 3. Blatt würden die in geringerer Menge vorhandenen Reservewuchsstoffe, durch Heteroauxin aktiviert, noch ausreichen, um die Teilungsfähigkeit der sich entwickelnden Blattepidermis zu erhöhen, nicht aber um die darauffolgende differentielle Teilung im Sinne einer geförderten Stomatabildung zu beeinflussen. Die Blätter erreichen daher ein Vielfaches der Größe der unbehandelten Kontrollen und eine ihrer Fläche entsprechende Potenz zur Stomataentwicklung, die das normale Maß kaum übersteigt.

Umrath (1948) hat als erster die Ansicht geäußert, daß die Zahl der Spaltöffnungen der Blattepidermis einen Schluß auf den Wuchsstoffgehalt der Blattanlage zur Zeit der Differenzierung zuläßt; diese Vermutung stützt sich zunächst lediglich auf absolute Werte der Stomatazahlen. Die hier dar-

gelegten Ergebnisse stützen die Annahme Umraths und ermöglichen eine weitere Präzisierung. Die Differenzierung der Blattepidermis in Spaltöffnungen und Epidermiszellen wird vom Wuchsstoffgehalt des Blattes während seiner Entwicklung beeinflusst. Eine Verschiebung der Relation Stomata : Epidermiszellen zugunsten der Stomata-Zahl läßt auf einen optimalen Wuchsstoffgehalt schließen. Eine Verschiebung zugunsten der Zahl der Epidermiszellen kann durch einen unter- oder überoptimalen Wuchsstoffgehalt bedingt sein.

### Zusammenfassung

I. Werden *Vicia Faba*-Keimlinge in Nährlösungen mit Heteroauxin-Zugaben gezogen, so verändert sich nicht nur ihr Habitus, sondern es wird auch die Differenzierung der Blattepidermis beeinflusst. Damit werden die Befunde von Umrath (1948) an *Tradescantia fluminensis* und *Neptunia plena* auch für *Vicia Faba* bestätigt.

II. Für *Vicia-Faba*-Lichtkeimlinge liegt das Optimum der wachstumsfördernden Wirkung des H. A. bei einer Konzentration, die die Differenzierung der Blattepidermis nicht beeinflusst ( $1:10^7$ ). In stärkerer Dosis ( $1:10^4$ ) hemmt H. A. zwar das Flächenwachstum des Blattes, fördert dabei aber die Stomatabildung, eine weitere Konzentrationserhöhung ( $1:2 \cdot 10^5$ ) hat sowohl Wachstumshemmung, als auch Differenzierungshemmung der Epidermis zur Folge; die Relation Stomata : Epidermiszellen wird zugunsten der Epidermiszellen verschoben.

III. 1. Bei etiolierten *Vicia Faba*-Keimlingen nimmt die Zahl der Spaltöffnungen im Laufe der Weiterentwicklung des Sprosses von Blatt zu Blatt ab.

2. Kurze Belichtung (1—2 Stunden pro Tag) genügt, um die Spaltöffnungsbildung zu fördern. Dies wird durch die Annahme verständlich, daß im Dunkeln der Reservewuchsstoff verbraucht wird, kurze Belichtung jedoch eine Neubildung ermöglicht.

5. Das Optimum für die Wachstumsförderung und für die Spaltöffnungsbildung liegt für die etiolierten *Vicia Faba*-Keimlinge bei der gleichen H. A.-Konzentration ( $1:10^5$ ), jedoch verhalten sich hinsichtlich der Spaltöffnungsbildung die aufeinanderfolgenden Primärblätter verschieden.

a) 1. Primärblatt: Erhöhung der absoluten und relativen Spaltöffnungszahl durch Heteroauxin  $1:10^5$  und  $1:10^6$ , starke Hemmung der Stomatabildung bei stärkeren Wuchsstoffgaben ( $1:10^4$ ).

b) 2. Primärblatt: Bedeutend vermehrte Spaltöffnungsbildung bei mittleren H. A.-Konzentrationen ( $1:10^6$ ,  $1:10^5$ ). Die am 1. Primärblatt beobachtete Hemmung durch stärkere H. A.-Konzentrationen war an der Blattoberseite nur mehr geringfügig, an der Blattunterseite war sogar eine etwas höhere Stomatazahl als bei den Kontrollen zu verzeichnen. Die Relation Stomata : Epidermiszellen war bei allen mit H. A. behandelten Dunkelkeimlingen zugunsten der Spaltöffnungen verschoben, bei den verdunkelten Kontrollpflanzen zugunsten der Epidermiszellen.

c) 5. Primärblatt: Im Vergleich zu den absoluten und relativen Spaltöffnungszahlen des 2. Primärblattes waren die Werte nicht nur bei den Kontrollen, sondern auch an mit H. A. behandelten Pflanzen niedriger.



d) Es wird angenommen, daß im 2. Primärblatt der Dunkelpflanzen noch genügend aktivierbarer Wuchsstoff vorhanden ist, daß dieser durch das H. A. aktiviert und daher die Stomatabildung gefördert wird. Am 3. Primärblatt reichte der Wuchsstoffvorrat trotz der Aktivierung durch das H. A. nicht mehr aus, um eine wesentliche Förderung der Spaltöffnungsbildung zu bewirken.

4. Für die Beurteilung des Wuchsstoffgehaltes eines Blattes während seiner Entwicklung genügt es nicht, die Zahl der Stomata pro mm<sup>2</sup> heranzuziehen, es muß vielmehr in erster Linie die Relation Stomata : Epidermiszellen berücksichtigt werden.

#### Literatur

- Avery, 1955: Differential distribution of a phytohormone in the developing leaf of *Nicotiana* and its relation to polarized growth. Bull. Torrey Bot. Club 62, zit. nach Pohl 1956.
- Bünning, 1941: Über die Verhinderung des Etiolements. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 59.
- 1948: Die Bildung des Spaltöffnungsmusters in der Blattepidermis. Zeitschr. Naturforsch. 3.
- 1948: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Berlin 1948.
- Guttenberg und Segelitz, 1958: Einfluß von Licht und Dunkelheit auf Wurzelwachstum und Wurzelbildung. Planta 28.
- Katunskij, 1955: Growth promoting substance and the formative action of light on vegetation in plants. C. R. Acad. Sc. de l'URSS 1956, II (XI), zit. nach Bünning 1941.
- Kögl, 1937: Wirkstoffprinzip und Pflanzenwachstum. Naturwiss. 25.
- Kolda, 1957: Anatomie etiolierter und periodisch belichteter Pflanzen. Beih. Bot. Ztbl. 57, Abt. A.
- Koningsberger and Verkaaik, 1958: On phototropic curvatures in *Avena*, caused by photochemical inactivation of Auxin-a via its lactone. Rec. Trav. bot. néerl. 55.
- Navez, 1935: Growth promoting substance and illumination. Proc. nat. Sci. (USA) 19, zit. nach Pohl 1935.
- Van Overbeek, 1935: Wuchsstoff, Lichtwachstumsreaktion und Phototropismus bei *Raphanus*. Rec. Trav. bot. néerl. 30.
- Pohl, 1955: Über den Endospermwuchsstoff und die Wuchsstoffproduktion der Koleoptilspitze. Planta 24.
- 1956: Die Abhängigkeit des Wachstums der *Avena*-Koleoptile und ihrer sogenannten Wuchsstoffproduktion vom Auxingehalt des Endosperms. Planta 25.
- Thimann, Kenneth and Skoog, 1934: On the inhibition of bud development and other function of growth substance in *Vicia Faba*, Proc. roy. Soc. London 114; zit. nach Pohl 1935.
- Umrath, 1948: Dornenbildung, Blattform und Blütenbildung in Abhängigkeit von Wuchsstoff und korrelativer Hemmung. Planta 36.
- Zimmermann und Hitchcock, 1936: Effect of light and dark on responses of plants to growth substances. Contrib. Boyce Thompson Inst. 1936, 8.



# Permeabilitätsverteilung in den Zellen des Stengels von *Taraxacum officinale* und anderer krautiger Pflanzen

Von

Walter Url

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien)

Mit 5 Textabbildungen

(Eingelangt am 21. März 1951)

## I. Einleitung

In den Jahren nach der Entdeckung der Permeabilität des Protoplasmas für Glycerin (Klebs 1888) und Harnstoff (De Vries 1889), ist man daran gegangen, die Wegsamkeit des Plasmas für eine große Zahl verschiedener Stoffe zu untersuchen, wobei man vorerst noch die Plasmen aller Pflanzen in ihrem Verhalten gleichartig dachte. Diese Periode intensiver Permeabilitätsforschung an einzelnen Objekten führte zur Aufstellung der bekannten Permeabilitätstheorien von Overton (1895 bis 1899) und Ruhland (1912—1914, Ruhland und Hoffmann 1925) und zu der aus der Synthese von Lösungs- und Ultrafilterprinzip hervorgegangenen Lipoidfiltertheorie Collanders. Die weitere Forschung bezog immer mehr Pflanzen in den Kreis ihrer Untersuchungen ein und brachte die für die vergleichende Protoplasmatik (Höfler 1932) grundlegende Erkenntnis, daß die Plasmen verschiedener Pflanzen in ihrem Permeabilitätsverhalten gegenüber Anektrolyten große und kennzeichnende Unterschiede aufweisen, was zum Versuch der Charakterisierung des Plasmas durch seine „spezifische Permeabilitätsreihe“ führte (Höfler 1932, 1934a, b). Später beobachtete man Permeabilitätsänderungen im Verlauf der Entwicklung der Zellen (Weber 1931, Moder 1932, Marklund 1936, Hofmeister 1938) und auch verschiedenes Permeabilitätsverhalten derselben Zellsorte bei Einflüssen verschiedener Außenfaktoren (Schmidt 1936, 1939), was zur Neufassung des Begriffes der spezifischen Permeabilitätsreihe führte: „Für die gegebene Zellsorte ist ihre Permeabilitätsreihe, deren Wandel mit dem Entwicklungszustand und Veränderlichkeit unter dem Einfluß von Außenfaktoren bezeichnend“ (Höfler 1937).

Die Permeabilitätsforschung prüfte weiter vergleichend das Permeabilitätsverhalten verschiedener Gewebe einer Pflanze und sogar verschiedener Zellen ein und desselben Gewebes.

So zeigten Höfler und Stiegler (1921, 1930) als erste, daß auch verschiedene Zellsorten derselben Pflanze große Permeabilitätsdifferenzen aufweisen können. An Stengelängsschnitten von *Gentiana Sturmiensis* erwies sich das Plasma der Epidermis als vielmal permeabler für Harnstoff als jenes der darunterliegenden subepidermalen Zellschicht.

Entsprechend der Zielsetzung der protoplasmatischen Anatomie (Weber 1929) vergleicht Weber (1930, 1931) die Harnstoffpermeabilität gewöhnlicher Epidermiszellen mit der Permeabilität der Schließzellen und zeigt, daß diese wesentlich höher

durchlässig sind, gleichzeitig sich aber auch die Durchlässigkeit dieser Stomatazellen im Laufe der Entwicklung ändert.

In der gleichen Linie liegen ausgedehnte Untersuchungen über Permeabilitätsunterschiede ungleich alter Zellen desselben Gewebes. Moder (1932), besonders aber dann Marklund (1936) zeigten, daß Zellen von der Oberseite im basalen Teil der morphologisch gleichen Blättchen des *Elodea*-Stämmchens in den verschiedenen alten „Zonen“ sehr unterschiedliche Permeabilitätseigenschaften besitzen. Neue Beobachtungen zur gleichen Frage stammen von Collander und Wikström (1949). Ähnliche Unterschiede im Permeabilitätsverhalten erhielt Pecksieder (1947) beim Vergleich verschieden alter Blättchen von *Chiloscyphus rivularis* und anderer Lebermoose.

Große Permeabilitätsdifferenzen fand Marklund auch zwischen Epidermiszellen der Mittelrippe verschieden alter *Taraxacum*-Blätter. In jungen Blättern permeiert Harnstoff schneller als Glyzerin. Es zeigt sich also der schon von Hofmeister (1935) am selben Objekt beobachtete Harnstofftyp. In älteren Blättern im Hochsommer permeiert aber Glyzerin deutlich schneller als Harnstoff (Glyzerintyp).

Anknüpfend an Höfler und Stiegler (1921 und 1930) hatte Hurch (1935) Epidermen und Subepidermen von Blättern verschiedener Pflanzen in mehreren Diosmotika untersucht und gleichfalls deutliche Permeabilitätsdifferenzen gefunden.

Als bestes Beispiel für die ungleiche Wegsamkeit der Plasmen verschiedener Gewebe ein und derselben Pflanze für verschiedene Diosmotika kann *Gentiana Sturmi* gelten. Zum erstenmal zeigt Höfler (1936) an dieser Pflanze beim Vergleich der Permeabilitätseigenschaften der Stengelepidermis und der Korollröhre, daß Permeabilitätsunterschiede so groß sein können, daß selbst die Permeabilitätsreihen völlig verschieden werden.

Die gegenüber dem angrenzenden Parenchym höhere Permeabilität der Epidermis ist anscheinend weit verbreitet. Es sei hier nur auf die gleichfalls von Höfler und Stiegler (1921) stammenden orientierenden Beobachtungen an Stengeln von *Euphrasia Rostkovi*, *Melampyrum silvaticum* und Blattstielen von *Homogyne alpina* und *Taraxacum officinale* hingewiesen, bei denen überall in den Epidermiszellen eine höhere Permeabilität als in der darunterliegenden Parenchymschicht festzustellen war. Permeabilitätsangaben für Blattstiele von *Pelargonium zonale* (Bogen 1938) und für Stengeln von *Lamium maculatum* (Schmidt 1939) stimmen damit überein.

Reuter (1949, S. 232) schreibt: „Die Feststellung, daß zwischen den Zellen verschiedener Gewebe Unterschiede im Grad der Durchlässigkeit für bestimmte Stoffe bestehen, kann als gesichert gelten. Die endgültige Bestimmung der feineren qualitativen und quantitativen Permeabilitätsunterschiede ist vorläufig noch der Zukunft vorbehalten.“

In der Tat ist das vorliegende Erfahrungsmaterial zu spärlich, um Verallgemeinerungen größeren Umfanges treffen zu können.

Meine Arbeit war nun der Untersuchung der Permeabilitätsverhältnisse unterschiedlicher Gewebesorten, und zwar der Epidermis und der subepidermalen Rindenschichte (im folgenden kurz als Subepidermis bezeichnet) von Stengeln verschiedener krautiger Pflanzen, gewidmet, wobei am Ausgangspunkt meiner Untersuchungen im besonderen die Frage nach der Größe der Unterschiede im Permeiervermögen verschiedener Diosmotika in Epi-

dermen und Subepidermen stand. Mein besonderes Interesse galt den „rapiden Harnstofftypen“, also jenen Plasmen, durch welche Harnstoff schneller als der besser lipoidlösliche, aber größermolekulare Methylharnstoff eindringt. Dies besonders deshalb, weil die Frage der porengeforderten Permeabilität kleinmolekularer Nichteinklektrolyte durch die neueren Arbeiten Collanders (Collander 1949a, 1950, Collander und Wikström 1949) wieder in den Vordergrund des Interesses gerückt wurde.

Es sei gestattet, dem Vorstande des Pflanzenphysiologischen Institutes der Universität Wien, in dessen Rahmen diese Versuche durchgeführt wurden, meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. Karl Höfler, für die Anregung der Arbeit und seine ständige Hilfe an dieser Stelle den besten Dank auszusprechen. Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. Richard Biebl für wertvolle Unterstützung.

## II. Versuchsmethodik und Material

Für meine Permeabilitätsbestimmungen verwendete ich vor allem die plasmometrische Methode von Höfler. Als Maß der Permeabilität dient  $\Delta G$ , die Änderung des Plasmolysegrades pro Stunde.

$G$ , der Plasmolysegrad, errechnet sich bei entsprechend (annähernd zylindrisch)

geformten Zellen aus der Gleichung:  $G = \frac{l - \frac{b}{3}}{h}$ ,  $l$  ist die Länge des Protoplasten (nach Abrundung),  $h$  = die innere Länge der Zelle,  $b$  = die innere Breite der Zelle. Durch Einsetzen von  $l_1$ ,  $l_2$  in obige Gleichung erhält man verschiedene Plasmolysegrade  $G_1$ ,  $G_2$ . Die Differenz der Plasmolysegrade  $G_2 - G_1$ , auf die Stunde berechnet, ergibt  $\Delta G$ . Im übrigen verweise ich auf die mehrfach vorliegenden ausführlichen Darstellungen der plasmometrischen Methode (Höfler 1918c, Höfler und Stiegler 1930, Höfler 1934b, Hofmeister 1935, Strugger 1935, 1949, Kreuz 1941, Rottenburg 1943, Biebl 1948).

Auf die Berechnung der Permeationskonstante  $P'$  wurde verzichtet, erstens weil sich schon die Werte  $\Delta G$  für Vergleichszwecke gut eignen, ferner um neue Fehlerquellen zu vermeiden. Zur Berechnung von  $P'$  ist die Bestimmung der Partialkonzentration  $c$  des Diosmotikums im Zellsaft nötig. Dieses kann nur annäherungsweise erfolgen, indem man aus der Stoffaufnahme während des zu wertenden Intervalls extrapoliert. Bei höherer Permeabilität — und viele meiner Objekte sind relativ hoch permeabel, insbesondere die Epidermen — wird dieser Wert immer ungenauer. Die Werte für  $P'$  sind etwas höher als die  $\Delta G$ -Werte. Bei steigender Permeabilität wird dieser Unterschied immer größer. Die von mir angeführten Zahlen, welche das Verhältnis der Permeiergeschwindigkeiten von Epidermis und Subepidermis angeben, beziehen sich, soweit aus plasmometrischen Versuchen gewonnen, auf den Vergleich von  $\Delta G$ -Werten. Bei Benützung der  $P'$ -Werte würde der Unterschied zwischen Epidermis und Subepidermis etwas größer sein.

Bei vielen Versuchen wurde die Deplasmolysezeit festgestellt. Besonders bei hochpermeablen Objekten, wo die plasmometrische Messung nur einer oder doch sehr weniger Zellen möglich ist, ist ja der „Deplasmolysezeitversuch... geeignet, Ergebnisse plasmometrischer Versuche zu sichern...“ (Hofmeister 1948).

Durch die Methode von Hofmeister (1948) wird es überdies möglich, Deplasmolysezeitversuche rechnerisch auszuwerten und mit plasmometrisch gewonnenen Werten zu vergleichen.

Zu solcher Permeabilitätsbestimmung ist es noch notwendig, den osmotischen

Wert des Objektes zu kennen, den ich in Traubenzuckerlösung plasmometrisch bestimmte. Hofmeister gibt in seiner Arbeit nur eine Formel zur Berechnung von  $P_d'$  ( $P'$  gewonnen aus einem Deplasmolysezeitversuch) an. Im folgenden bedeutet:  $C$  = Konzentration des Plasmolytikums,  $c$  = jeweilige Konzentration der eingedrungenen Substanz im Zellsaft,  $M$  = die pro Stunde aufgenommene Menge der permeierenden Substanz in mol,  $O$  = osmotischer Wert des Objektes,  $T$  = Deplasmolysezeit.  $P'$  berechnet sich nach der plasmometrischen Methode aus  $\frac{M}{C-c}$ . Hofmeister berechnet nun  $M$  aus:  $\frac{(C-O)60}{T}$ ,  $c$  aus:  $\frac{C-O}{2}$ .  $P_d'$  ergibt sich daraus aus der Formel  $\frac{120(C-O)}{T(C+O)}$ . Da ich aus meinen plasmometrischen Versuchen nur  $\Delta G$ -Werte berechnet habe, gewann ich eine Formel zur Errechnung von  $\Delta G_d$  ( $\Delta G$ , gewonnen aus einem Deplasmolysezeitversuch) auf einfache Weise, indem ich in die Formel  $M = \Delta G \cdot C$  die Hofmeister-Formel für  $M$  einsetzte.  $\Delta G_d$  berechnet sich demnach aus:  $\frac{(C-O)60}{C \cdot T}$ .

Es sei hier auch noch darauf hingewiesen, daß man  $\Delta G$  auf einfache Weise ohne Ausrechnung der Plasmolysegrade errechnen kann.  $\Delta G$  ergibt sich aus  $G_2 - G_1$ , der Differenz der Plasmolysegrade, auf die Stunde berechnet. Setzt man die plasmometrische Grundgleichung ein, so kürzen sich die  $\frac{b}{3}$  im Nenner:

$$\Delta G = -\frac{l_2 - \frac{b}{3}}{h} - \frac{l_1 - \frac{b}{3}}{h}, \text{ es ergibt sich } \Delta G = \frac{l_2 - l_1}{h}.$$

Man mißt also die Ausdehnung des Protoplasten in einem gewissen Zeitraum in Strichen des Okularmikrometers, berechnet, wieviel Striche er sich in der Stunde ausdehnen würde, und dividiert durch  $h$ , die Zelllänge. Für einen genauen plasmometrischen Versuch ist aber die Berechnung der Plasmolysegrade unerläßlich, da es sonst nicht möglich ist, die Gleichmäßigkeit der Rückdehnung der Protoplasten zu überprüfen.

Mein Hauptversuchsobjekt war der Blütenstiel von *Taraxacum officinale*. Die Pflanzen wuchsen im Versuchsgarten des Pflanzenphysiologischen Institutes im Augarten auf leichtem sandigem Boden in Wiesenstücken an Wegrändern. Die Versuchsreihe des Jahres 1949 wurde an Ort und Stelle durchgeführt, so daß immer mit frischem Freilandmaterial gearbeitet werden konnte. Die 1950 am Pflanzenphysiologischen Institut bearbeiteten Pflanzen wurden in einer mit feuchtem Filterpapier ausgeschlagenen Blechdose eingebracht und meist noch am selben Tag behandelt. Die Blütenstiele der verwendeten Pflanzen wiesen eine durchschnittliche Länge von 20–35 cm auf und waren, oft der ganzen Länge nach, besonders an der der Sonne zugewandten Seite mehr oder weniger rot gefärbt. Die Rotfärbung entsteht hier durch die anthokyanreiche Subepidermis, während die Epidermis farblose Zellsäfte besitzt. In der Epidermis meines Materials liegen nur selten stark gefärbte kleine Zellgruppen, die sich idioblastenartig abheben. Diese Inseln sind schon mit freiem Auge als kleine Tüpfchen am Stiel zu erkennen. Der Farbton dieses Stengelteiles erscheint dunkel, da die tieferliegenden Parenchymschichten relativ viel Chlorophyll besitzen. Dagegen befindet sich an der Stengelbasis eine schmale, meist 1–2 cm breite Zone, die sich vom übrigen Blütenstiel oft durch ihre blaßrote Färbung abhebt (siehe Abb. 1).

Die tieferliegenden Parenchymschichten führen hier fast kein Chlorophyll. Im Gegensatz zum oberen Stengelteil wird die Färbung dieser Zone aber durch die anthokyanhaltige Epidermis bewirkt, während die Subepidermis nicht merklich gefärbt ist.

Meine ersten Versuche mit *Taraxacum* beziehen sich auf diese untere Zone. Die auftretenden großen Permeabilitätsunterschiede zwischen Schnitten dieser unteren Zone und Schnitten vom oberen Teil des Stengels fielen mir erst später auf. Ein großer Vorteil für meine vergleichenden Messungen war, daß sich Epidermis und Subepidermis hinsichtlich ihrer Zellgrößen in beiden Stengelabschnitten nicht besonders unterscheiden, wodurch eine Reduktion der Permeabilitätswerte auf die Protoplastenoberfläche wegfallen konnte. Das Alter der Blütenstiele war verschieden. Die jüngsten trugen ein eben abgeblühtes Köpfchen, bei dem sich der Hüllkelch eben geschlossen hatte, die ältesten trugen reife Früchte, der Hüllkelch war ganz geöffnet.

Permeabilitätsunterschiede zwischen solchen Exemplaren konnte ich in der im Herbst 1949 durchgeführten Hauptversuchsreihe nicht feststellen.

Die Schnitte aus dem oberen Stengelteil stammten aus einer Höhe von 5–12 cm unter dem Blütenköpfchen. Innerhalb einer solchen Strecke wiesen die Schnitte kein abweichendes Permeabilitätsverhalten auf.

Von anderen Pflanzen, mit denen ich eine größere Anzahl von Versuchen durchgeführt habe, nenne ich insbesondere *Homogyne alpina*, *Epilobium hirsutum* (Stengel und fleischige Ausläufer) und *Campanula rapunculoides*.

Die Schnitte wurden mit einer Rasierklinge hergestellt und nach Entlüftung vor Beginn des Versuches verschieden lang in dest. Wasser gewässert (15 Minuten bis 6 Stunden).

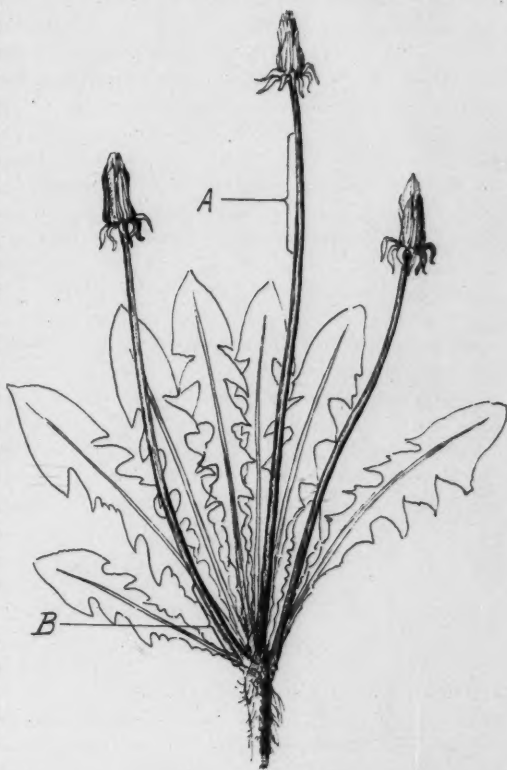


Abb. 1. *Taraxacum officinale*. A = apikale Stengelzone.  
B = basale Stengelzone.



Diese kurze Wässerungsdauer hatte keinen merklichen Einfluß auf die Permeabilität. Nach Biebl (1948, S. 141) hemmt auch eine Wässerungsdauer von 28 Stunden die Harnstoffpermeation bei *Solanum tuberosum* nicht. Die Dicke der Schnitte betrug meist 4–5 Schichten, so daß unter der gemessenen Subepidermis noch mindest zwei lebende Zellschichten lagen (vgl. Höfler u. Stiegler 1950, S. 483). Zu dünne Schnitte müssen wegen der Gefahr der Wundhemmung verworfen werden. Aus diesem Grunde ist es auch nicht angebracht, bei Permeabilitätsbestimmungen in tieferen Parenchymschichten mit „Stufenschnitten“, d. h. teils ein-, teils mehrschichtig hergestellten Präparaten zu arbeiten, da sich durch das Abtragen der Epidermis die Gefahr der Wundhemmung sehr erhöht. Die Messungen der einzelnen Zellen erfolgten in genauen Zeitabständen; jede Minute, mitunter alle 30 Sekunden wurde die Protoplastenlänge einer Zelle gemessen. Die Permeationszeit war so für jede Zelle genau bekannt, auf eine Mittelwertberechnung konnte verzichtet werden (vgl. auch Bogen 1958, S. 540).

Die gemessenen Epidermis- und Subepidermiszellen grenzten meist direkt aneinander oder lagen zumindest in nächster Nachbarschaft, so daß in dieser Hinsicht volle Vergleichbarkeit besteht.

Die verwendeten Diosmotika waren reinste Präparate von der Heilmittelstelle Wien (Harnstoff, Glycerin), von Merck (Harnstoff), Schering-Kahlbaum (Methylharnstoff) und Heyl (Erythrit) und wurden in dest. Wasser gelöst. Zur Messung verwendete ich ein Reichert-Okular-Mikrometer III (7×) und ein Objektiv 7 a von Leitz; ein Mikrometerteilstrich entspricht hier 2,66  $\mu$ .

### III. Versuche

#### *Taraxacum officinale*

##### a) Permeabilität im basalen Stengelteil

Die Hauptversuchsreihe mit dieser Pflanze führte ich zwischen dem 12. September und dem 15. Oktober 1949 durch. Ein warmer, schöner Nachsommer hielt in diesem Jahre lang an, die Pflanzen waren diese ganze Zeit hindurch in voller Frische. Wie schon erwähnt, arbeitete ich zuerst nur mit der unteren Stengelzone, in welcher die Epidermis rot gefärbt ist.

Epidermis wie Subepidermis zeigten einen schwachen, aber konstant auftretenden Glycerintyp. Deutlich ist die höhere Permeabilität der Epidermis. Als Beleg teile ich folgendes streng vergleichbares Versuchspaar mit.

#### Harnstoff

Versuch 19.

3. Oktober 1949.

Eben abgeblühte Pflanze, Blütenstiel 55 cm hoch.

$C$  (Konzentration des Diosmotikums) = 1,5 mol Harnstoff,  $t$  (Temperatur der Lösung) = 21°.

Ein Schnitt wurde geteilt. Die eine Hälfte wird für den unten angeführten Glycerinversuch aufgehoben, die andere Hälfte kommt nach einer Wässerung von 60 Minuten um 11<sup>h</sup> 37' 30" in die Lösung.



Epidermis. 1. Messung 11<sup>h</sup> 51' (jede Minute eine Zelle), 2. Messung 11<sup>h</sup> 59', 3. Messung 12<sup>h</sup> 05'.

Zelle	h	b	$l_1$	$l_2$	$l_3$	$G_1$	$G_2$	$G_3$	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$
1	33	4	26,6	29	31	0,765	0,839	0,900	0,555	0,606
2	41	6	33,5	36	38,8	0,769	0,830	0,898	0,457	0,680
3	28	5,5	23,7	25,3	27	0,784	0,840	0,905	0,420	0,650

$$\Delta G (\text{Mittel}) = 0,561$$

Die leichte Steigerung der Permeabilität im zweiten Abschnitt des Versuches ist nicht pathologisch. Der Schnitt wurde nach Ende des Versuches in 1,0 molare Traubenzuckerlösung übertragen und zeigte um 16<sup>h</sup> 30' schöne Plasmolyse in Epidermis und Subepidermis.

Subepidermis. Selber Schnitt (Versuch 19).

1. Messung 12<sup>h</sup> 12', 2. Messung 12<sup>h</sup> 52', 3. Messung 12<sup>h</sup> 52'.

Zelle	h	b	$l_1$	$l_2$	$l_3$	$G_1$	$G_2$	$G_3$	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$
1	36	9	28	30	33	0,695	0,751	0,835	0,168	0,249
2	37	8	29	30,3	32,5	0,712	0,749	0,808	0,111	0,177
3	36	8	29	30,8	dpl.*	0,730	0,785	—	0,165	—
4	28	9	22	23	Protoplast stößt an linke Wand	0,678	0,714	—	0,108	—

\* deplasmolysiert.

$$\Delta G (\text{Mittel}) = 0,163$$

Tabelle 1 gibt die Mittelwerte aus allen Versuchen der Hauptreihe (acht Versuche mit der Epidermis, davon fünf gleichzeitig mit der Subepidermis). Außerdem gebe ich in der Tabelle die extremen Mittelwerte der einzelnen Versuche und die Extremwerte der einzelnen Zellen bei diesen Versuchen an.

Tab. 1. Harnstoffpermeabilität der unteren Stengelzone.

	Allg. Mittel	Extremmittel	Extremwerte der Versuche
Epidermis	$\Delta G = 0,614$	0,330 — 0,868	0,200 — 0,480, 0,672 — 1,344
Subepidermis	0,140	0,094 — 0,205	0,048 — 0,172, 0,189 — 0,270

Der Harnstoff dringt im Durchschnitt in die Epidermis mehr als 4,3mal schneller ein als in die Subepidermis.

### Glyzerin

Versuch 20. Schwesterschnitt des Versuches 19.

Epidermis.

Schnitt um 14<sup>h</sup> 55' in die Lösung.  $C = 1,2$  mol Glyzerin,  $t = 22^\circ$ .

1. Messung Zelle 1—3 15<sup>h</sup> 04', Zelle 4—6 15<sup>h</sup> 15', 2. Messung Zelle 1—3 15<sup>h</sup> 10', Zelle 4—5 15<sup>h</sup> 20', Zelle 6 15<sup>h</sup> 18'. Messungen alle 30 Sekunden.

Zelle	h	b	l <sub>1</sub>	l <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	$\Delta G_{1-2}$
1	27	7	23,7	27	0,790	0,915	1,240
2	22	7	18	20	0,712	0,803	0,910
3	37	6	34,8	37	0,888	0,946	0,580
4	32	6	26	28,7	0,752	0,835	0,996
5	27	6	23	24	0,780	0,816	0,432
6	49	5	44	45,1	0,865	0,886	0,630

$\Delta G$  (Mittel) der Zellen 1—3 = 0,908,  $\Delta G$  (Mittel) der Zellen 4—6 = 0,686,

$\Delta G$  (Mittel aller Zellen) = 0,797.

Die beiden Zellgruppen entstammten verschiedenen Stellen des Schnittes.

Subepidermis dieses Schnittes. Die gemessenen Zellen liegen unter der ersten Zellgruppe.

1. Messung 15<sup>h</sup> 22', 2. Messung 15<sup>h</sup> 32'.

Zelle	h	b	l <sub>1</sub>	l <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	$\Delta G_{1-2}$
1	33	16,5	29	31,2	0,713	0,780	0,402
2	31	11,5	26,7	28	0,738	0,779	0,246
3	29	11,5	23,9	26,3	0,691	0,776	0,510

$\Delta G$  (Mittel) = 0,386

Tab. 2 gibt wieder allgemeine Mittelwerte aus allen Versuchen (Epidermis 7, Subepidermis 5) und Extremmittelwerte.

Tab. 2. Glyzerinpermeabilität des basalen Stengelteiles.

	Allg. Mittel	Extrem- mittelwerte	Extremwerte für die einzelne Zelle
Epidermis	0,868	0,626 — 1,208	0,295 — 1,000, 0,600 — 2,030
Subepidermis	$\Delta G =$ 0,340	0,235 — 0,570	0,126 — 0,492, 0,280 — 0,870

Für Glyzerin ist die Epidermis im Durchschnitt 2,5mal permeabler als die Subepidermis.

Die niedrigere Permeabilität der letzteren ist auffallend. In vielen Versuchen erfolgte die Messung der Subepidermis erst, nachdem die Messung der Epidermis schon abgeschlossen war. Vergleicht man z. B. in Versuch 19 die Plasmolysegrade der ersten Messungen für die Epidermis und Subepidermis, so findet man für die Epidermis ein Mittel von 0,772, für die Subepidermis dagegen nur ein solches von 0,704. Außerdem entsprechen aber die Zeiten einander nicht. Einen Plasmolysegrad von annähernd 0,772 findet man für die Subepidermis erst bei der zweiten Messung. Diese fand 55 Minuten nach dem Einlegen statt, die erste Messung in der Epidermis schon 14 Minuten nach dem Einlegen. Die osmotischen Werte beider Schichten sind annähernd gleich (ungefähr 0,490 mol Traubenzucker).

## Methylharnstoff

Mit diesem Diosmotikum habe ich nur eine kleinere Anzahl von Versuchen durchgeführt. Mein Hauptziel war es, seine Stellung in der Reihe festzulegen. Als Mittel nehme ich die Werte des folgenden Versuches. Ähnliche Werte ergaben sich auch aus orientierenden Versuchen. Für mehrere Deplasmolysezeit-Versuche ergab sich für die Epidermis in 2,0 molarer Lösung ein Deplasmolysezeitmittel von 20 Minuten, für die Subepidermis ein solches von 29 Minuten. Nach der Hofmeister-Methode ergibt das als  $\Delta G$ -Werte: für die Epidermis 3,000, für die Subepidermis 2,000. (Der osmotische Wert beträgt ungefähr 0,5 mol Traubenzucker.) Diese Werte sind zwar gegen die unten angegebenen Werte viel zu hoch, lassen sich auch mit den plasmometrisch gewonnenen nicht streng vergleichen, das Verhältnis Epidermis-Subepidermis ist aber ungefähr dasselbe. Für die Hauptreihe ist es für die untere Stengelzone aber immer charakteristisch, daß in Epidermis wie Subepidermis Glycerin dem Harnstoff leicht überlegen ist, dieses aber noch erheblich langsamer permeiert als der Methylharnstoff.

Versuch 27.

15. Oktober 1949.

Epidermis. Fruchtende Pflanze, Stengel 30 cm hoch.

Schnitt geteilt, eine Hälfte für Kontrollversuch in Harnstoff aufgehoben. Schnitt 15<sup>h</sup> 22' in die Lösung. Nach stark konkav eintretender Plasmolyse wird schnell Ab Rundung erreicht.  $C = 1,8$  mol Methylharnstoff,  $t = 20,5^\circ$ .

1. Messung 15<sup>h</sup> 31', 2. Messung 15<sup>h</sup> 36', 3. Messung 15<sup>h</sup> 39'; Messungen alle 30 Sekunden.

Zelle	<i>h</i>	<i>b</i>	<i>l</i> <sub>1</sub>	<i>l</i> <sub>2</sub>	<i>l</i> <sub>3</sub>	<i>G</i> <sub>1</sub>	<i>G</i> <sub>2</sub>	<i>G</i> <sub>3</sub>	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$
1	31	6	26	28	Grenz-plasm.	0,774	0,838	—	0,768	—
2	38	6,5	33	35	38	0,811	0,864	0,943	0,636	1,580
3	39,5	7	33	38	Grenz-plasm.	0,767	0,891	—	1,488	—
4	37	8	29	32	36	0,711	0,792	0,901	0,972	2,180
5	29	8	25,1	27	—	0,773	0,839	—	1,320	—

 $\Delta G$  (Mittel) = 1,277

Subepidermis. Selber Schnitt wie Versuch 27.

1. Messung 15<sup>h</sup> 42', 2. Messung 15<sup>h</sup> 52'. Zelle 7 (Kontrollzelle aus anderem Schnitt-teil) 1. Messung 15<sup>h</sup> 57', 2. Messung 16<sup>h</sup> 01', 3. Messung 16<sup>h</sup> 04'.

Zelle	<i>h</i>	<i>b</i>	<i>l</i> <sub>1</sub>	<i>l</i> <sub>2</sub>	<i>l</i> <sub>3</sub>	<i>G</i> <sub>1</sub>	<i>G</i> <sub>2</sub>	<i>G</i> <sub>3</sub>	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$
1	53	8,5	42	50	—	0,550	0,701	—	0,906	—
2	34	8	28	34	—	0,804	0,921	—	0,702	—
3	57	8	47	56	—	0,777	0,935	—	0,948	—
4	33	12,5	27	31	—	0,692	0,813	—	0,726	—
5	41	10,5	30	33	—	0,646	0,707	—	0,366	—
6	44	10	35	40	—	0,719	0,838	—	0,714	—
7	46	9	39,4	42,2	45	0,792	0,853	0,914	0,915	1,220

 $\Delta G$  (Mittel) = 0,812

Der Schnitt wurde nach dem Versuch in eine molare Traubenzuckerlösung gebracht und zeigte am nächsten Tag um 9 Uhr früh schöne Plasmolyse und starke Systrophen.

Für Methylharnstoff ist die Epidermis im Durchschnitt 1,5—2mal permeabler als die Subepidermis.

## Erythrit

Dieser Zucker permeiert sehr langsam. Interessant ist, daß auch hier ein deutlicher Unterschied im Permeiervermögen zwischen Epidermis und Subepidermis auftritt. Tab. 3 gibt eine Übersicht über einen Versuch. Der Schnitt war erst eine Stunde in der Lösung von 1,0 mol Erythrit. Die zweite Messung erfolgte nach 16 Stunden.

Tab. 3. Permeabilität in Erythrit.

	$\Delta G$	Extremwerte	Mittel der $G_1$	Mittel der $G_2$	Dehnung in Strich (Durchschnitt)
Epidermis	0,0174	0,0156 — 0,0216	0,535	0,794	11,3
Subepidermis	0,0090	0,0125 — 0,0058	0,487	0,630	6,6

„Dehnung in Strich“ bedeutet die Anzahl der Okularmikrometerteilstreiche, um die sich durchschnittlich die Protoplasten während der Zeit  $t$  (16 Stunden) rückgedehnt haben.

Wie allen hochpermeablen Objekten ist auch *Taraxacum* eine größere Schwankungsbreite der Permeabilitätswerte eigen. In der Hauptversuchsreihe erfolgte dadurch aber nie eine Veränderung der Permeabilitätsreihen, noch wies je die Subepidermis eine ähnlich hohe Permeabilität wie die Epidermis auf.

Der Abstand der einzelnen Diosmotika voneinander in der Reihe ist aber ziemlich veränderlich. Das zeigt der folgende Versuch, bei dem wie immer die Reihung gleich bleibt, aber der Abstand Harnstoff-Glyzerin größer ist. In der Epidermis verhält sich der Harnstoff zum Glyzerin wie 1 : 2,6 (Durchschnitt sonst 1 : 1,4). In der Subepidermis verhalten sich die Permeationsgeschwindigkeiten der beiden Diosmotika wie 1 : 5,5 (im Durchschnitt 1 : 2,4).

## Versuch 1.

12. September 1949.

Fruchtende Pflanze, Blütenstiel 30 cm hoch.

Epidermis.

 $C = 1,2$  mol Harnstoff,  $t = 24^\circ$ .

Erst eine halbe Stunde gewässert, um 11<sup>h</sup> 48' in die Lösung, Schwesterschnitt für Glyzerinversuch aufgehoben.

1. Messung 12<sup>h</sup> 00', 2. Messung 12<sup>h</sup> 10', 3. Messung 12<sup>h</sup> 20', 4. Messung 12<sup>h</sup> 30'. Messungen alle Minuten.

Zelle	$h$	$b$	$l_1$	$l_2$	$l_3$	$l_4$	$G_1$	$G_2$	$G_3$	$G_4$	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$	$\Delta G_{3-4}$	
1	32	7	25	29,2	Grenzplasm. 32	dpl.	0,708	0,840	—	—	0,792	—	—	
2	35	7	25,3	29		34,5	0,655	0,762	0,847	0,917	0,642	0,510	0,420	
3	58	5,5	39,5	44,6		50	55	0,649	0,735	0,825	0,911	0,516	0,540	0,517
4	40	5	27,3	29,5		31,1	32,8	0,641	0,682	0,723	0,766	0,246	0,245	0,246
5	46	6	29,5	31		32,8	34,2	0,597	0,630	0,670	0,700	0,198	0,240	0,180
6	27	8	20,1	21,5		22,8	23,5	0,646	0,698	0,745	0,773	0,312	0,282	0,168

 $\Delta G$  (Mittel) = 0,375

Permeabilitätsverteilung in den Zellen des Stengels v. *Taraxacum officinale* 485

Subepidermis. Selber Schnitt wie oben Versuch 1.  
 $t = 25,5^\circ$ .

1. Messung 12<sup>h</sup> 42', 2. Messung 13<sup>h</sup> 02', 3. Messung 13<sup>h</sup> 22', 4. Messung 13<sup>h</sup> 42'.  
 Messungen alle Minuten.

Zelle	h	b	$l_1$	$l_2$	$l_3$	$l_4$	$G_1$	$G_2$	$G_3$	$G_4$	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$	$\Delta G_{3-4}$
1	59	10	38	40	42	44,2	0,588	0,622	0,656	0,693	0,102	0,102	0,111
2	45	13	29	30,3	31,9	33	0,548	0,576	0,612	0,637	0,084	0,108	0,075
3	63	10	38,3	40,1	43	46	0,555	0,577	0,623	0,670	0,066	0,135	0,141

$\Delta G$  (Mittel) = 0,102

Versuch 2.

12. September 1949.

Schwesterschnitt des Versuches 1.  $C = 1,2$  mol Glycerin,  $t = 27,5^\circ$ .  
 Eingelegt in die Lösung 13<sup>h</sup> 56'.

Epidermis.

1. Messung 14<sup>h</sup> 13', 2. Messung 14<sup>h</sup> 15', 3. Messung 14<sup>h</sup> 17'.

Zelle	h	b	$l_1$	$l_2$	$l_3$	$G^1$	$G_2$	$G_3$	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$
1	34	6	30,1	31,8	32,5	0,827	0,877	0,898	1,500	0,630
2	53	5	47	48,8	—	0,855	0,890	—	1,050	—

$\Delta G$  (Mittel) = 1,060

Subepidermis. Selber Schnitt wie Versuch 2.

1. Messung 14<sup>h</sup> 23', 2. Messung 14<sup>h</sup> 33', 3. Messung 14<sup>h</sup> 39'.

Zelle	h	b	$l_1$	$l_2$	$l_3$	$G_1$	$G_2$	$G_3$	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$
1	75	7	54	65	67	0,689	0,835	0,863	0,876	0,280
2	64	7	49,7	58	—	0,740	0,870	—	0,780	—
3	53	7,5	35	38	—	0,613	0,670	—	0,342	—

$\Delta G$  (Mittel) = 0,570

Der Harnstoff ist gegenüber dem allgemeinen Mittel gehemmt, während das Glycerin eine erhöhte Permeabilität aufweist.

Es seien hier noch die Werte eines anderen Versuchspaares übersichtsweise angegeben.

Versuch 3 und 4.

13 September 1949.

Eben zu fruchten beginnende Pflanze.  $C = 1,2$  mol Harnstoff bzw. 1,2 mol Glycerin,  $t = 25-27^\circ$ .

		Harnstoff	Glycerin	Verhältnis Harnstoff : Glycerin
Epidermis	$\Delta G =$	0,836	1,208	1 : 1,4
Hypodermis		0,094	0,238	1 : 2,5

Hier ist die Harnstoffpermeabilität gegenüber dem allgemeinen Mittel erhöht. Aber auch das Glycerin permeiert schneller, so daß sich ein Verhältnis Harnstoff zu Glycerin einstellt, das ungefähr dem der allgemeinen Mittel entspricht. Auch hier ist die charakteristische Überlegenheit des Glycerins zu sehen.

### b) Permeabilität im oberen Stengelteil

Ganz im Gegensatz zur Permeabilität der Zellen an der Stengelbasis steht das Verhalten der Zellen im oberen Stengelteil.

Die — hier ungefärbte — Epidermis ist für Harnstoff rapid durchlässig. Harnstoff permeiert schneller als Methylharnstoff, niemals langsamer. Ein abweichendes Permeabilitätsverhalten, wie ich es für die Zellen der Stengelbasis außerhalb der Hauptreihe später manchmal feststellte, beobachtete ich hier nie. Immer waren die farblosen Epidermiszellen rapid harnstoffdurchlässig. Harnstoff dringt in die Zellen so rasch ein, daß meistens auch in 1,5 molarer Lösung keine Plasmolyse erfolgt. Es war nötig, mit hohen Konzentrationen von 1,8 und 2,0 Mol zu arbeiten. Diese werden bei nicht allzu langer Einwirkung von den Zellen ohne Schädigung vertragen. Die Zellen der Subepidermis sind gegen diese hohen Konzentrationen wesentlich empfindlicher. Die Protoplaste runden kaum ab und zerfallen oft in mehrere Teile. Die Messungen an der Subepidermis wurden daher getrennt an anderen Schnitten mit niedrigeren Konzentrationen vorgenommen.

Die rasche Rückdehnung der Protoplaste der Epidermis erlaubte es nur, eine oder höchstens zwei Zellen je Schnitt zu messen.

Versuch 15.

28. September 1949.

Epidermis. Abgeblühte, noch nicht fruchtende Pflanze. Blütenstiel 30 cm hoch. Schnitte aus einer Höhe von 5–6 cm unter dem Köpfchen.  $C = 1,8$  mol Harnstoff,  $t = 26^\circ$ . Erst fünf Stunden gewässert, um 15<sup>h</sup> 31' in die Lösung.

1. Messung 15<sup>h</sup> 35', 2. Messung 15<sup>h</sup> 37'.

Zelle	$h$	$b$	$l_1$	$l_2$	$G_1$	$G_2$	$\Delta G_{1-2}$
1	21	6	18,9	20,9	0,809	0,904	2,850

1. Messung 15<sup>h</sup> 36', 2. Messung 15<sup>h</sup> 37' 30".

2	23	5,5	21,8	23	0,868	0,920	2,080
---	----	-----	------	----	-------	-------	-------

Ein anderer Schnitt derselben Pflanze, eingelegt 15<sup>h</sup> 43' 30" in 2,0 mol Harnstoff.

1. Messung 15<sup>h</sup> 46' 30", 2. Messung 15<sup>h</sup> 47' 30".

Zelle	$h$	$b$	$l_1$	$l_2$	$l_3$	$G_1$	$G_2$	$G_3$	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$
1	24	5	22,1	23,1	—	0,852	0,895	—	2,580	—

1. Messung 15<sup>h</sup> 48', 2. Messung 15<sup>h</sup> 49' 30", 3. Messung 15<sup>h</sup> 51'.

2	29	5	25	26	28	0,804	0,838	0,907	1,360	2,760
---	----	---	----	----	----	-------	-------	-------	-------	-------

Die  $\Delta G$ -Werte dieser Versuche sind sicher zu niedrig. Der tatsächliche Wert liegt bei etwa 4.000. Die schnellste gemessene Rückdehnung einer Zelle entsprach einem  $\Delta G$  von rund 5.000. Auch die kurzen Deplasmolysezeiten (in 2,0 molarer Lösung meist 5–7 Minuten) deuten auf wesentlich höhere  $\Delta G$ -Werte.

Gegenüber der hohen Harnstoffpermeabilität der Epidermis ist die Permeabilität der Subepidermis auffallend niedrig.



## Subepidermis

Versuch 12.

28. September 1949.

Schnitt von derselben Pflanze wie Versuch 15 (S. 486).  $C = 1,5$  mol Harnstoff,  $t = 22,5^\circ$ .

Schnitt erst eine Stunde gewässert, um 11<sup>h</sup> 18' in die Lösung. Die Protoplaste runden sich langsam, die Epidermis zeigt um 11<sup>h</sup> 21' keine Plasmolyse.

1. Messung 11<sup>h</sup> 37', 2. Messung 11<sup>h</sup> 47', 3. Messung 11<sup>h</sup> 57'. Messungen alle Minuten.

Zelle	<i>h</i>	<i>b</i>	<i>l</i> <sub>1</sub>	<i>l</i> <sub>2</sub>	<i>l</i> <sub>3</sub>	<i>G</i> <sub>1</sub>	<i>G</i> <sub>2</sub>	<i>G</i> <sub>3</sub>	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$
1	27	6	19	19,8	21,1	0,630	0,660	0,707	0,180	0,282
2	20	6,5	15	16	17,9	0,642	0,692	0,786	0,300	0,564
3	27	6	19,2	21	22,6	0,637	0,704	0,764	0,402	0,360
4	25	6,5	17,6	18,9	20,5	0,618	0,670	0,734	0,312	0,384
5	23	6,5	18	19	20,2	0,689	0,732	0,785	0,258	0,318

 $\Delta G$  (Mittel) = 0,336

Anderer Schnitt derselben Pflanze, gewässert 4 Stunden.  $C = 1,5$  mol Harnstoff,  $t = 23,5^\circ$ .

Eingelegt 14<sup>h</sup> 15'.

1. Messung 14<sup>h</sup> 31', dann jede 10 Minuten die nächste. Alle 30 Sekunden eine Zelle gemessen.

Zelle	<i>h</i>	<i>b</i>	<i>l</i> <sub>1</sub>	<i>l</i> <sub>2</sub>	<i>l</i> <sub>3</sub>	<i>l</i> <sub>4</sub>	<i>G</i> <sub>1</sub>	<i>G</i> <sub>2</sub>	<i>G</i> <sub>3</sub>	<i>G</i> <sub>4</sub>	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$	$\Delta G_{3-4}$
1	31,5	6	22	23,9	26	27	0,635	0,695	0,762	0,794	0,360	0,402	0,192
2	40	6,5	29	30,2	33	34,5	0,672	0,702	0,772	0,807	0,180	0,420	0,210
3	28	5,5	20,5	22	23,1	25	0,666	0,719	0,760	0,825	0,318	0,246	0,390
4	29	6	22	23,2	24,5	26	0,690	0,731	0,772	0,825	0,246	0,246	0,318

 $\Delta G$  (Mittel) = 0,294

Versuch 22.

3. Oktober 1949.

Die Schnitte stammen von der Pflanze, die in Versuch 19 (S. 480) verwendet wurde. Die Schnitte vom oberen Stengelteil stammen hier aus einer Höhe 13–14 cm unter dem Köpfchen.

Zuerst 2 Stunden gewässert, 13<sup>h</sup> 09' in 1,2 mol Harnstoff eingelegt.

1. Messung 13<sup>h</sup> 29', 2. Messung 13<sup>h</sup> 44' (alle Minuten).

Zelle	<i>h</i>	<i>b</i>	<i>l</i> <sub>1</sub>	<i>l</i> <sub>2</sub>	<i>G</i> <sub>1</sub>	<i>G</i> <sub>2</sub>	$\Delta G_{1-2}$
1	68	7	45	53	0,627	0,747	0,480
2	39	7	29	32	0,685	0,761	0,224
3	59	8,5	42	46,5	0,662	0,740	0,312

 $\Delta G$  (Mittel) = 0,339

Tab. 4. Harnstoffpermeabilität im oberen Stengelteil.

	Allg. Mittel	Extremwerte einzelner Zellen	
Epidermis	um 4,000	1,500 — um 5,000	20 Versuche
Subepidermis	0,368	0,294 — 0,546	6 Versuche

Der Harnstoff permeiert in der Epidermis rund zehnmal schneller als in der Subepidermis.

## Glyzerin

Die Glyzerinpermeabilität überrascht. Sie ist im oberen Stengelteil deutlich niedriger als in der basalen Zone.

## Versuch 23.

3. Oktober 1949.

Epidermis. Der Schnitt stammt von derselben Pflanze, die in Versuch 19 (S. 480) verwendet wurde.  $C = 1,5$  mol Glyzerin,  $t = 23^\circ$ .

Seit 10<sup>h</sup> 45' gewässert, um 13<sup>h</sup> 11' in die Lösung.

1. Messung Zelle 1—3: 13<sup>h</sup> 20', Zelle 4—7: 13<sup>h</sup> 36'; 2. Messung Zelle 1—3: 13<sup>h</sup> 25', Zelle 4—7: 13<sup>h</sup> 42'; 3. Messung Zelle 1—3: 13<sup>h</sup> 51', Zelle 4—7: 13<sup>h</sup> 52'. Messungen Zelle 1—3 alle Minuten, Zelle 4—7 alle 50 Sekunden.

Zelle	h	b	$l_1$	$l_2$	$l_3$	$G_1$	$G_2$	$G_3$	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$
1	44	7,5	26,5	27,7	29	0,545	0,573	0,603	0,336	0,300
2	44	5	30,6	32,5	34	0,657	0,701	0,735	0,528	0,340
3	53	7	34	34,9	36	0,598	0,615	0,635	0,204	0,200
4	49	6	37,9	39,3	42,2	0,733	0,761	0,820	0,280	0,354
5	48	6	39	40	42,1	0,771	0,794	0,836	0,230	0,252
6	51	6	35,1	36	37,6	0,650	0,668	0,700	0,180	0,192
7	44	6	34,1	35	36,1	0,730	0,750	0,775	0,200	0,150

$\Delta G$  (Mittel Zellen 1—3) = 0,318.  $\Delta G$  (Mittel Zellen 4—7) = 0,230.

$\Delta G$  (Mittel) = 0,274

Zelle 1 ist eine einzelne, stark gefärbte Zelle.

## Subepidermis.

## Versuch 16.

28. September 1949.

Der Schnitt stammt aus nächster Nachbarschaft der Schnitte, die für Versuch 15 und 12 (S. 486 u. 487) verwendet wurden. Gewässert seit 10<sup>h</sup> 10'.  $C = 1,5$  mol Glyzerin,  $t = 26^\circ$ . Schnitt kommt um 15<sup>h</sup> 51' in die Lösung.

1. Messung 16<sup>h</sup> 06', 2. Messung 16<sup>h</sup> 16', 3. Messung 16<sup>h</sup> 26', 4. Messung 16<sup>h</sup> 36'. Messungen erfolgen alle 50 Sekunden.

Zelle	h	b	$l_1$	$l_2$	$l_3$	$l_4$	$G_1$	$G_2$	$G_3$	$G_4$	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$	$\Delta G_{3-4}$
1	41	5	29	31	32,6	34,3	0,666	0,715	0,755	0,797	0,294	0,240	0,252
2	37	5	—	27,3	28,2	29,1	—	0,666	0,690	0,715	—	0,144	0,150
3	35	5	26,1	28	30	31	0,699	0,752	0,809	0,838	0,318	0,342	0,174

$\Delta G$  (Mittel) = 0,240

## Versuch 23 a.

8. Oktober 1949.

Eben abgeblühte Pflanze, noch nicht fruchtend, Stengel 35 cm hoch, Schnitte aus einer Höhe von 7 cm unter dem Köpfchen. Gewässert seit 9<sup>h</sup> 10'.  $C = 1,5$  mol Glyzerin,  $t = 18^\circ$ . Eingelegt 10<sup>h</sup> 00' in die Lösung.

Zellen 1 und 2 sind Epidermiszellen, Zellen 2 und 3 Subepidermiszellen. Die Messung erfolgte in einem. Die Subepidermiszellen liegen unter den Epidermiszellen.

1. Messung 10<sup>h</sup> 16', 2. Messung 10<sup>h</sup> 36'. Messungen alle Minuten.

Zelle	<i>h</i>	<i>b</i>	<i>l</i> <sub>1</sub>	<i>l</i> <sub>2</sub>	<i>G</i> <sub>1</sub>	<i>G</i> <sub>2</sub>	$\Delta G_{1-2}$
1	34	6	22	24	0,589	0,648	0,177
2	28,5	6,5	17	19	0,521	0,591	0,210
3	41	9	21	22	0,440	0,464	0,120
4	85	7	28	29	0,395	0,411	0,096

Epidermis (Mittel)  $\Delta G = 0,193$ ; Subepidermis (Mittel)  $\Delta G = 0,108$ 

Man achte wieder auf die Plasmolysegrade! Die Subepidermis zeigt schon nach 16 Minuten die deutlich niedrigeren *G*-Werte.

Tab. 5. Glycerinpermeabilität im oberen Stengelteil.

	Allg. Mittel	Extremwerte einzelner Zellen	Anz. d. Versuche
Epidermis	$\Delta G = 0,381$	0,100 — 0,900	6
Subepidermis	0,268	0,072 — 0,636	5

Glycerin permeiert in die Zellen der Epidermis 1,4mal schneller als in die Zellen der Subepidermis.

### Methylharnstoff

Die Permeabilität der Epidermiszellen für Methylharnstoff ist sehr hoch. Mit einer 1,5 molaren Lösung konnte kaum Plasmolyse erzielt werden. Es wurde mit 1,8 molarer Lösung gearbeitet. Dabei machte ich eine ähnliche Beobachtung, wie sie Biebl (1948) an Epidermiszellen von *Salonum tuberosum* beschrieb. In einer Lösung von 1,2 oder 1,5 mol Methylharnstoff treten dort nach 10—11 Minuten plötzlich Plasmakappen auf. Die meisten dieser Zellen sterben dann ab. Bei *Taraxacum* liegen die Verhältnisse insofern etwas anders, als diese Kappen schon viel früher auftreten (schon nach 4—5 Minuten, vielleicht auch durch die höhere angewendete Konzentration bedingt) und die Resistenz der Zellen eine größere ist. Wirkt der Methylharnstoff nicht allzulang auf die Zellen ein, so gehen bei Übertragung des Schnittes in Traubenzucker die Kappen weitgehend zurück und die Zellen zeigen wieder schöne Plasmolyse. Die Stärke der Aufquellung des Plasmas ist auch sehr verschieden. Manche Zellen zeigen überhaupt keine Kappen.

#### Epidermis.

Hauptsächlich wurden an Schwesterschnitten die Deplasmolysezeiten für 1,8 molare Harnstoff- und 1,8 molare Methylharnstofflösung verglichen. Die durchschnittliche Deplasmolysezeit in Methylharnstofflösung betrug 9 bis 10 Minuten (Harnstoff 5—7 Minuten). Einzelne gemessene Zellen ergeben einen  $\Delta G$ -Durchschnitt von rund 2,400.

#### Subepidermis.

Auch in die Subepidermiszellen permeiert der Methylharnstoff sehr rasch. Er permeiert viel rascher als Glycerin und Harnstoff! Der „rapide Harnstofftyp“ der Epidermis findet sich also in der Subepidermis nicht.

## Versuch 24.

13. Oktober 1949.

Der Schnitt stammt von der Pflanze aus Versuch 27 (S. 483). Die Schnitte stammen aus einer Höhe von 8–9 cm unter dem Köpfchen.  $C = 1,8$  mol Methylharnstoff,  $t = 20^\circ$ .

Nach 5stündiger Wässerung kommt der Schnitt um 13<sup>h</sup> 15' in die Lösung.

1. Messung 13<sup>h</sup> 27', 2. Messung 13<sup>h</sup> 32', 3. Messung 13<sup>h</sup> 35', 4. Messung 13<sup>h</sup> 38'. Messungen alle 30 Sekunden.

Zelle	<i>h</i>	<i>b</i>	<i>l</i> <sub>1</sub>	<i>l</i> <sub>2</sub>	<i>l</i> <sub>3</sub>	<i>l</i> <sub>4</sub>	<i>G</i> <sub>1</sub>	<i>G</i> <sub>2</sub>	<i>G</i> <sub>3</sub>	<i>G</i> <sub>4</sub>	$\Delta G_{1-2}$	$\Delta G_{2-3}$	$\Delta G_{3-4}$
1	53	5	44	46,4	50	<sup>53</sup> Grenz.	0,798	0,844	0,912	0,968	0,552	1,360	1,120
2	70	6	56	59	62,4	67	0,771	0,814	0,865	0,931	0,516	1,020	1,320
3	59	6	43	46	49,8	Grenz- plasm.	0,691	0,745	0,810	—	0,648	1,300	—
4	71	5	58	63,2	67	70	0,793	0,866	0,920	0,962	0,876	1,620	1,260

$\Delta G$  (Mittel) = 1,053

Dieser Schnitt kam nach Ende des Versuches in Traubenzuckerlösung und zeigte am nächsten Tag um 14<sup>h</sup> 30' schöne Plasmolyse und in den an die Subepidermis anschließenden Parenchymschichten Plastidensystrophe. Aus drei Versuchen ergibt sich für die Subepidermis ein  $\Delta G$ -Mittel von 1,060. In die Epidermis dringt der Methylharnstoff also rund 2,3mal so schnell ein als in die Subepidermis.

## Erythrit

Der für den in Tab. 6 angeführten Versuch verwendete Schnitt stammt von derselben Pflanze, auf die sich auch Tab. 3 (Erythritpermeabilität der basalen Zone) bezieht. Er wurde in einer Höhe von 9 cm unter dem Köpfchen gemacht. Der Schnitt lag vor der ersten Messung erst 1½ Stunden in der Lösung von 1,0 mol Erythrit. Die zweite Messung erfolgte 16 Stunden später.

Tab. 6. Permeabilität in Erythrit.

	$\Delta G$ (Mittel)	Extremwerte	Mittel <i>G</i> <sub>1</sub>	<i>G</i> <sub>2</sub>	Durchschn. Rückdehn- in Strich (Durchschn.)
Epidermis	0,0184	0,0130 — 0,0264	0,565	0,857	13,7 Strich
Subepidermis	0,0112	0,0135 — 0,0088	0,493	0,739	8,9 Strich

Auch hier ist die Epidermis deutlich permeabler als die Subepidermis. Die Zellen dieses oberen Stengelteles sind aber auch höher durchlässig als die Zellen von der basalen Zone. Neben dem Vergleich der Werte für  $\Delta G$  geht das wieder besonders aus der Betrachtung der Plasmolysegrade hervor. (Die Messung der beiden Schnitte liegt 25 Minuten auseinander, eine Zeitspanne, die bei dieser langsamen Permeabilität ohne Einfluß ist.) Im Zeitpunkt der zweiten Messung waren außerdem in der Epidermis des oberen Stengelteles schon 40% der Zellen deplasmolysiert, während es unten erst 10% waren.

Tabelle 7 gibt eine Zusammenfassung der Mittelwerte aller Versuche der Hauptreihe.

Tabelle 7.

	Harnstoff	Glycerin	Methylharnstoff	Erythrit	
Epidermis	etwa 4,0	0,381	2,400	0,0184	oben
	0,614	0,868	1,277	0,0174	unten
Subepidermis	0,368	0,268	1,060	0,0112	oben
	0,140	0,340	0,812	0,0091	unten

Die Ergebnisse meiner Versuche der Hauptreihe an *Taraxacum officinale* sind in den Abbildungen 2—5 graphisch dargestellt. Auf logarithmischer Skala sind hier die Werte für  $\Delta G$  (aus Tab. 7) aufgetragen. Gleichen linearen Abständen entsprechen gleiche Verhältniswerte. Diese Darstellungsmethode wurde zuerst von Hofmeister (1935) angegeben und nach ihm von mehreren Autoren benützt (Marklund 1936, Wahry 1936, Höfler 1936, 1937, 1942, Schmidt 1939, Biebl 1948).

Die Fig. 4 und 5 zeigen deutlich, daß sowohl zwischen den Epidermen wie den Subepidermen des basalen und apikalen Stengelteils große Permeabilitätsunterschiede bestehen. Die entwicklungsgeschichtlich jüngeren Zellen der Basis zeigen in Epidermis und Subepidermis einen deutlichen Glycerintyp (vgl. Fig. 2), während in der apikalen Zone Harnstoff in der Subepidermis schneller als Glycerin permeiert, in der Epidermis aber sogar schneller als Methylharnstoff eindringt („rapider Harnstofftyp“). In der Epidermis steht dem Harnstoff also auch der Porenweg zur Verfügung, da er wesentlich schneller als der besser lipoidlösliche Methylharnstoff durchs Plasma tritt. Fig. 3 zeigt, daß in der apikalen Stengelzone der rapide Harnstofftyp allein in der Epidermis auftritt und sich in der Subepidermis nicht wiederfindet.

Ein Vergleich dieser Befunde mit Ergebnissen anderer Autoren ist noch am ehesten mit Marklunds (1936) Beobachtungen an *Elodea* möglich.

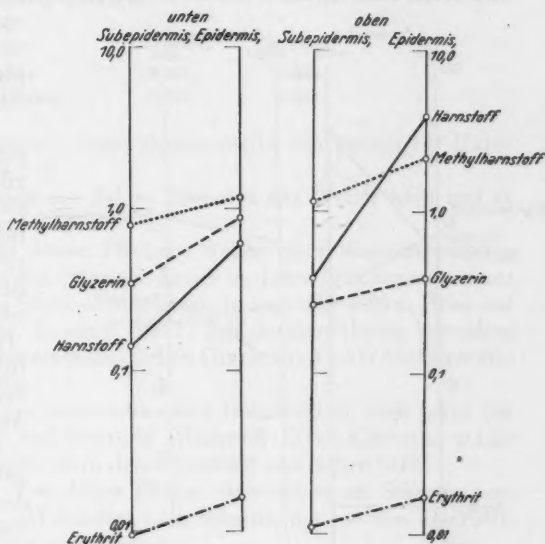


Abb. 2 und 3. *Taraxacum officinale*. Permeabilität an der Basis und im oberen Teil des Stengels.

Allerdings sind die Permeabilitätsunterschiede am *Taraxacum*-Stengel nicht so groß wie zwischen Zone I und II am *Elodea*-Sproß. Hier permeieren in Zone I (jüngste Wirtel) die Diosmotika sehr langsam (Deplasmolysezeiten für Methylharnstoff: 45 Minuten, Harnstoff: 4 Stunden, Glycerin: 8½ Stunden, Malonamid: 40 Stunden), Zone II (ältere Wirtel) zeigt rapide Harnstoff-permeabilität und allgemein hohe Permeabilität (Deplasmolysezeiten für Methylharnstoff: 9 Minuten, Harnstoff: 4 Minuten, Glycerin: 45 Minuten, Malonamid: 100 Minuten; vgl. Marklund, S. 33).

Überraschend ist am *Taraxacum*-Stengel dagegen die deutlich niedrigere Glycerinpermeabilität der entwicklungsgeschichtlich älteren apikalen Zone, ein Zug, der sich bei *Elodea* nicht findet und der zeigt, daß man es auch hier nicht mit einfachen Permeabilitätshemmungen oder -förderungen im allgemeinen zu tun hat. Der Chemismus der als Lösungsmittel für die Diosmotika wirkenden Plasmaphasen scheint so bei *Taraxacum* zwischen basalem und

apikalem Stengelteil noch unterschiedlicher zu sein als bei den Plasmen von Zone I und II bei *Elodea*.

Keinerlei Parallelität meiner Beobachtungen ergibt sich dagegen zu Ruges (1943) Befunden an jungen und ausdifferenzierten Zellen des *Rhoeo*-Blattes, wo die Epidermiszellen mit dem Alter eine Permeabilitätssteigerung für Glycerin, aber eine Permeabilitätsabnahme für Amide erfahren.

Es sei aber darauf hingewiesen, daß die Zellen des basalen Stengelteils der von mir untersuchten *Taraxacum*-Pflanzen — obwohl entwicklungsgeschichtlich jünger — doch schon völlig ausdifferenziert waren und keine weitere Entwicklung mehr erfuhren. Marklunds Zellen der Zone I von *Elodea* wie auch Ruges „junge“ Zellen waren dagegen noch nicht völlig ausdifferenziert.

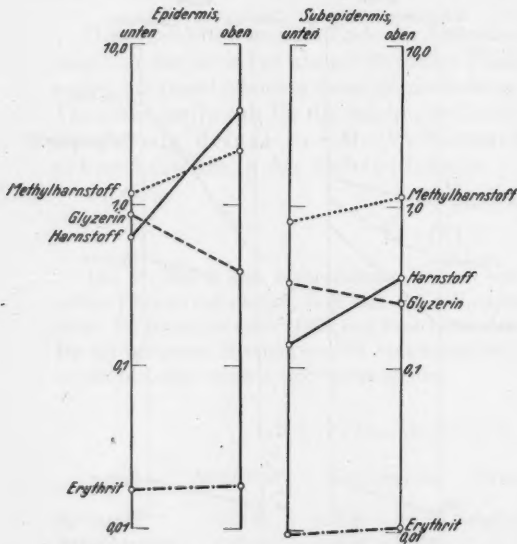


Abb. 4 und 5. *Taraxacum officinale*. Permeabilität der Epidermen und Subepidermen an der Basis und im oberen Teil des Stengels.

#### Versuche mit *Homogyne alpina* und *Epilobium hirsutum*

Im Blütenstiel von *Homogyne alpina* fand ich ein für meine Zwecke hervorragend geeignetes Objekt. Schnitte aus halber Höhe des Stiels zeigen ideale Zellformen. Der größte Vorteil des Objektes liegt in der gleich-



mäßig roten Färbung von Epidermis und Subepidermis. Vergleichende Permeabilitätsmessungen sind daher hier besonders leicht anzustellen, da auch bei völlig deplasmolysierter Epidermis die Grenzen der Protoplasten in der Subepidermis, welche dank ihrer geringeren Permeabilität langsamer deplasmolysieren, gut zu sehen sind. Durch die gleichmäßige Färbung von Epidermis und Subepidermis ist dieses Objekt auch dadurch interessant, daß sich die „Gewebeschichtung“ (vgl. Höfler 1951, Kasy 1951) hier nicht wie sonst so oft, in ungleichem Anthokyangehalt von Epidermis und (subepidermaler) Parenchymschicht ausdrückt. Die Permeabilitätsunterschiede zwischen den beiden Schichten sind aber auch hier sehr deutlich.

Im Jahre 1949 bearbeitete ich Pflanzen, die ich auf zwei Exkursionen auf die Rax in einer Höhe von 1500—1700 m gesammelt hatte. Die Versuche führte ich am 2.—3. Juli und 20.—22. Juli aus. Als Mittelwerte aller Versuche ergaben sich folgende  $\Delta G$ -Werte:

	Harnstoff	Glyzerin
Epidermis	1,020	0,200
Subepidermis	0,205	0,053

Als Verhältnis Epidermis : Subepidermis ergibt sich daraus für Harnstoff 4,9 : 1, für Glyzerin 3,7 : 1.

Auf beiden Exkursionen des Jahres 1949 war das Wetter kühl und es regnete schon seit mehreren Tagen.

Ganz im Gegensatz zu diesen Pflanzen, welche einen deutlichen Harnstofftyp zeigen, verhielten sich Pflanzen, die ich im Jahre 1950, inmitten einer schon länger anhaltenden Schönwetterperiode, in ungefähr 1800 m Höhe auf dem Schneeberg sammelte. In am 6. und 7. Juli durchgeführten Versuchen zeigten die Epidermiszellen einen deutlichen Glyzerintyp ( $\Delta G$  für Glyzerin: 0,456, für Harnstoff: 0,330).

Die Subepidermis zeigte einen schwachen Harnstofftyp, doch lagen die  $\Delta G$ -Werte für Harnstoff und Glyzerin (Harnstoff: 0,144, Glyzerin: 0,122) wesentlich näher beisammen als in den Versuchen vom Jahre 1949.

*Epilobium hirsutum*. Von dieser Pflanze verwendete ich Schnitte vom oberen Teil des Stengels und daneben auch Schnitte, die von den unterirdischen fleischigen Ausläufern stammten.

Die Schnitte vom Stengel zeigen neben idealen Zellformen auch eine gute Färbung von Epidermis und Subepidermis, haben aber den Nachteil einer ziemlich starken Behaarung. An den fleischigen Ausläufern ist teilweise die Epidermis schwächer oder stärker gefärbt. Folgende Zusammenstellung gibt eine Übersicht über die Mittelwerte  $\Delta G$  für Harnstoff und Glyzerin. Die Versuche führte ich im Juli 1950 aus.

	Stengel		Ausläufer	
	Harnstoff	Glyzerin	Harnstoff	Glyzerin
Epidermis	0,302	0,221	0,947	0,281
Subepidermis	0,169	0,160	0,150	0,286
Verhältnis:	1,7 : 1	1,4 : 1	6,3 : 1	1,05 : 1

### Versuche mit *Campanula rapunculoides*

*Campanula rapunculoides* ist eine nahe Verwandte der von Kreuz (1941) verwendeten *Campanula trachelium*. Für die zwischen dem 28. April und dem 4. Mai 1950 durchgeführte Versuchsreihe (durchwegs Deplasmolysezeitversuche) verwendete ich junge, noch nicht blühende Pflanzen aus dem Botanischen Garten der Universität Wien. Der osmotische Wert von Epidermis und Subepidermis betrug rund 0,425 mol Traubenzucker. Die Epidermis ist für Harnstoff rapid permeabel. Es war auch bei diesem Objekt notwendig, mit der hohen Konzentration von 2,0 mol Harnstoff zu arbeiten, um ausreichende Plasmolyse zu erzielen. Nach dem Versuch übertrug ich die Schnitte in molare Traubenzuckerlösung, wobei der neuerliche Plasmolyseeintritt zeigte, daß die hohe Harnstoffkonzentration von Epidermis und Subepidermis ziemlich gut vertragen wurde. Als Mittel aus 11 Versuchen fand ich für die Epidermis eine Deplasmolysezeit von 3 Minuten 30 Sekunden (nach Hofmeisters [1948] Methode berechnet, ergibt das einen  $\Delta G_a$ -Wert von rund 12,0). Auffallend niedrig dagegen ist die Permeabilität der Subepidermis. Die Deplasmolysezeit beträgt hier durchschnittlich 52 Minuten! ( $\Delta G_a = 0,900$ ).

Methylharnstoff permeiert in der Epidermis langsamer als Harnstoff. Die Deplasmolysezeit (Mittel aus sechs Versuchen) beträgt 6 Minuten in einer 1,8 molaren Lösung ( $\Delta G_a = 7,640$ ). Der rapide Harnstofftyp der Epidermis findet sich in der Subepidermis (wie bei *Taraxacum*, obere Stengelzone) nicht mehr. Die durchschnittliche Deplasmolysezeit beträgt für Methylharnstoff in der Subepidermis 24 Minuten ( $\Delta G_a = 1,900$ ).

In 1,5 molarer Glycerinlösung ergibt sich als Mittel aus vier Versuchen für die Epidermis eine Deplasmolysezeit von 20 Minuten ( $\Delta G_a = 2,150$ ) und für die Subepidermis eine solche von 55 Minuten ( $\Delta G_a = 0,790$ ).

Der rapide Harnstofftyp der Epidermis bleibt nach orientierenden Versuchen, die ich Ende Juni 1950 ausführte, aber nicht erhalten. Harnstoff und Methylharnstoff permeieren in die Stengelepidermiszellen ausgewachsener blühender Exemplare viel langsamer (Deplasmolysezeiten für Harnstoff 55 Minuten, Methylharnstoff 19 Minuten). Für Harnstoff ist die Hemmung also noch viel bedeutender als für Methylharnstoff.

### IV. Besprechung der Ergebnisse

Bevor wir auf die Frage der Permeabilitätsverteilung in Stengeln krautiger Pflanzen und im besonderen auf die Größe der Unterschiede zwischen Epidermis und Subepidermis näher eingehen, sollen zunächst die in der Literatur für diese Gewebe bekannten Verhältniszahlen der Permeationsgeschwindigkeiten zusammengestellt werden.

Höfler und Stiegler (1921, 1930) finden an *Gentiana Sturmiiana*, daß die Epidermis für Harnstoff im Durchschnitt 6–11mal permeabler ist als die Subepidermis. Hurch (1933) arbeitete mit Blättern. Bei *Vallisneria* (ihrem Hauptversuchsobjekt) sei die Permeabilität des Harnstoffes in der Epidermis 4–5mal höher als in den Zellen des Parenchyms. Bei diesem Objekt sind aber die Parenchymzellen wesentlich größer als die Epidermiszellen. In Wirklichkeit ist (S. 221): „... bei Bezug auf gleiche Oberflächen ... die Durchläs-

sigkeit der Epidermis ... doppelt so groß". Darauf muß bei vergleichenden Permeabilitätsmessungen zwischen Epidermis und tieferliegenden Zellschichten immer scharf geachtet werden, da, wenn die Epidermis wesentlich kleinere Zellen besitzt, die relativ größere Protoplastenoberfläche eine raschere Permeabilität vortäuscht. Der Unterschied der Permeationsgeschwindigkeiten wird dann, wenn bloß die Werte für  $\Delta G$  oder  $P'$  zugrunde gelegt werden, wie es bei *Vallisneria* zu sehen ist, zu groß.<sup>1</sup> Für Glyzerin ist bei *Vallisneria* die Epidermis 4,2mal permeabler als die Subepidermis. Dieser Wert reduziert sich aber bei Beachtung der Protoplastenoberfläche auch entsprechend. Ähnliche Werte erhält Hurch auch bei Versuchen mit Malonamid.

Für mehrere andere Pflanzen (*Sagittaria*, *Heteranthera graminea*, *Convolvulus majalis*, *Buphthalmum salicifolium*) werden in Harnstofflösung Verhältniszahlen Epidermis : Subepidermis von 1,3—1,5 : 1 gefunden. Zu diesen Versuchen ist noch zu bemerken, daß die absoluten Werte für  $\Delta G$  ziemlich niedrig liegen. Die meisten Werte — schon für die höher permeable Epidermis — liegen unter 0,5. Auch die höher harnstoffdurchlässigen Nervendeckzellen des Blattes von *Buphthalmum* ( $\Delta G$  bis 2,0) sollen nach Hurch im Mittel nur eine 2,5fache Überlegenheit über das Parenchym besitzen.

Schmidt (1939) hat gelegentlich seiner Permeabilitätsversuche mit trocken und feucht kultiviertem *Lamium maculatum*, Epidermis und Subepidermis (Hypodermis) des Stengels gemessen. Aus den angegebenen durchschnittlichen Deplasmolysezeiten lassen sich folgende Verhältniszahlen der Permeationsgeschwindigkeiten Epidermis : Subepidermis berechnen.

Stoff	bewässert	trocken
Harnstoff	3,0 : 1	1,7 : 0
Glyzerin	2,7 : 1	2,3 : 1
Malonamid	1,8 : 1	1,4 : 1

Tabelle 8 gibt eine Zusammenstellung der Verhältniszahlen, die ich aus meinen Versuchen gewonnen habe.

An diesen Verhältniszahlen fällt vor allem eines sofort auf: Der Quotient aus  $\frac{\Delta G \text{ Epidermis}}{\Delta G \text{ Subepidermis}}$  bleibt im überwiegenden Teil der Fälle unter 4, zu meist sogar unter 3. Obwohl sich also in allen Fällen eine deutliche Permeabilitätsdifferenz zwischen Epidermis und Subepidermis feststellen läßt, kann diese doch nicht beliebig groß werden, sondern meistens geht die Plasmolyse in der Epidermis nicht mehr als 3—4mal schneller zurück als in der Subepidermis.

Wir sehen ziemlich einheitliche Werte, obwohl sie sowohl von Objekten mit höherer als auch mit niedrigerer Permeabilität stammen.

<sup>1</sup> Hier hilft die Reduktion auf die Flächeneinheit der Protoplasten, die ja in den meisten neueren Arbeiten durchgeführt wird. Für meine vergleichenden Versuche an *Taraxacum* und auch bei den anderen Objekten war diese Reduktion nicht nötig, denn die verglichenen Zellen von Epidermis und Subepidermis hatten meist gleiche oder nahezu gleiche Größe. Die hier für Vergleichszwecke angegebenen  $P'$ -Werte für *Taraxacum* wurden aus einzelnen dem Durchschnitt entsprechenden  $\Delta G$ -Werten, für welche das  $P'$  berechnet wurde, erhalten:

Tab. 8. Verhältnis der Permeations- (Rückdehnungs-) Geschwindigkeiten.

Objekt	Harnstoff	Glyzerin	Methylharnstoff
<i>Homogyne alpina</i> (1949) . . . .	4,9:1	3,7:1	
(1950) . . . .	2,3:1	3,6:1	
<i>Epilobium hirsutum</i>			
Stengel . . . . .	1,7:1	1,4:1	
Ausläufer . . . . .	6,3:1	1,05:1	
<i>Campanula rapunculoides</i> . . .	13,3:1	2,7:1	4,0:1
<i>Digitalis amandiana</i> . . . . .	3,0:1		
<i>Pentstemon hirsutus</i> . . . . .	3,1:1		
<i>Aster sp.</i> (Gartenform) . . . . .	1,9:1	3,0:1	
<i>Taraxacum officinale</i>			
oben . . . . .	11,0:1	1,4:1	2,3:1
unten . . . . .	4,3:1	2,5:1	1,6:1

Drei Werte aber fallen besonders aus diesem Rahmen. Harnstoff permeiert in die Epidermiszellen des Stengels von *Taraxacum officinale* (obere Stengelzone, vgl. S. 486, *Campanula rapunculoides* (vgl. S. 494) und *Gentiana Sturmiiana* rund 10mal schneller als in jene der Subepidermis. In allen drei Fällen zeigt aber die Epidermis den „rapiden Harnstofftyp“!

Harnstoff permeiert schneller als sein Methylderivat, wodurch sich erweist, daß ihm dank seines kleinen Moleküls in allen drei Fällen der Porenweg offensteht.

Fragen wir uns, worin die Ursachen der Permeabilitätsunterschiede zwischen Epidermis und Subepidermis liegen können, so kommen zwei Möglichkeiten in Frage: Erstens kann das Plasma der Epidermiszellen höheres Löslichkeitsvermögen als jenes der Subepidermis besitzen, zweitens könnte man — nach dem Ultrafilterprinzip — für die Epidermis eine größere Maschenweite der Plasmahautschichten fordern.

In den meisten Fällen wird man wohl annehmen müssen, daß die Ursachen der Permeabilitätsunterschiede zwischen Epidermis und Subepidermis offenbar durch unterschiedliche Löslichkeitseigenschaften der als Lösungsmittel für die Diosmotika wirkenden Plasmaphasen bedingt sind. Auf dieser Basis ist die größere Permeabilität der Epidermis, vor allem für die großmolekularen Diosmotika (Erythrit, Malonamid, Glyzerin, Methylharnstoff), zu verstehen. Dieses unterschiedliche Lösungsvermögen des Plasmas von Epidermis und Subepidermis ergibt aber, wie unsere Zusammenstellung zeigt, höchstens Quotienten von 3—4.

*Taraxacum*, Permeationskonstanten *P* (in Zentimeter je Stunde)

Stengel:		Harnstoff	Glyzerin	Methylharnstoff
Epidermis	oben	0,0038	0,000252	0,00135
	unten	0,000325	0,000455	0,000745
Subepidermis	oben	0,00019	0,000122	0,00062
	unten	0,0000766	0,000209	0,00052

Dem kleinmolekularen Harnstoff steht aber in den „rapid“ permeablen Zellen neben dem Lösungsweg auch der Porenweg offen. Diese „rapide“ Permeation des Harnstoffes fand sich aber bis jetzt nur in Epidermen. Ist nun aber der Harnstoff in der Subepidermis allein oder doch zum überwiegenden Teil auf den Lösungsweg angewiesen, während in der Epidermis ihm, neben diesem, der Porenweg weit offensteht, so ist es wohl zu verstehen, daß das Verhältnis der Permeationsgeschwindigkeiten von der Epidermis zur Subepidermis wesentlich größer wird und der Quotient Werte bis über 10 erreicht.

Aus diesen Gründen spricht es vielleicht schon für eine porengeforderte Permeabilität des Harnstoffes in der Epidermis, wenn sein Quotient über 4 ansteigt, trotzdem Methylharnstoff noch schneller als Harnstoff permeiert. Andererseits ist aber die Porenpermeation des Harnstoffes erst dann als gesichert anzusehen, wenn er beinahe oder etwa eben so schnell wie Methylharnstoff permeiert (vgl. Biebl 1948).

Es wäre aber unangebracht, nur aus dem Quotienten allein darauf zu schließen, daß der Harnstoff in der Epidermis den Porenweg nicht benutzen kann, da wir wegen der doch immer noch geringen Zahl der bisher untersuchten Pflanzen noch nichts Endgültiges darüber zu sagen vermögen, ob der Harnstoff bei der einen oder anderen Pflanze nicht auch in der Subepidermis in höherem Grade porengefordert ist.

Daß für genügend kleine Moleküle gelöster Anelektrolyte auch in der Subepidermis der Porenweg geöffnet ist, läßt sich aus Collanders (1949) Angaben entnehmen. In die Subepidermiszellen von *Taraxacum* (Mittlerippe des Blattes) und in die Subepidermiszellen des Stengels von *Majanthemum* (vgl. Höfler 1954 b) permeiert das sehr kleinmolekulare Formamid schneller als das besser lipoidlösliche, aber größere Azetamid. Für das Formamid sind also auch im *Majanthemum*-Plasma (Subepidermis), das als Muster reiner Löslichkeitspermeabilität gilt, Porenwege geöffnet.

Eine nähere Betrachtung der — leider noch wenigen — Quotienten der Permeationsgeschwindigkeiten verschiedener Diosmotika scheint auch noch

folgendes zu zeigen: Der Quotient:  $\frac{\Delta G \text{ Epidermis}}{\Delta G \text{ Subepidermis}}$  ist bei den Plasmen

von Glyzerintyp („amidophobe Plasmen“) für Glyzerin meist größer als für die Amide, während es bei den Plasmen, die Harnstofftyp („amidophilen Typ“) zeigen, umgekehrt ist. Deutlich zeigt sich dies bei *Lamium* (Schmidt 1939) und in meinen eigenen Versuchen besonders bei *Aster* (einem deutlichen Glyzerintyp), *Taraxacum* (apikale Stengelzone) und bei *Campanula*; bei den beiden letzteren Objekten zumal beim Vergleich von Glyzerin und Methylharnstoff.

Eine gewisse Ausnahmestellung scheint die basale Stengelzone von *Taraxacum* einzunehmen. Obwohl Epidermis wie Subepidermis Glyzerintypen sind, ist doch der Quotient für Harnstoff am höchsten. Sein Wert von 4,3 spräche nach dem oben Gesagten für eine, wenn auch nur schwache, Porenförderung des Harnstoffes in der Epidermis, trotz des „amidophoben“ Plasmas. Marklund (1936) hat aber darauf hingewiesen, daß Amidophilie



und Porenphase unabhängig voneinander sein können. So könnte ein „amidophobes“ Plasma, also im Hinblick auf die Löslichkeitspermeabilität ein „Glyzerintyp“, bei genügend starker Entwicklung der Porenphase auch hoch harnstoff-poren-permeabel sein. Allerdings ist dieser fiktive Fall bis jetzt noch nicht experimentell belegt.

In diesem Zusammenhang sollen auch einige Versuche erwähnt werden, die ich im Spätsommer 1950 mit *Gentiana Sturmiiana* machte. Das Material wurde mir von Prof. Höfler aus der Ramsau geschickt. Die Epidermis wies das bekannte typische Permeabilitätsverhalten auf, die Subepidermis war aber ein schwacher Glyzerintyp! Die Epidermis wird als amidophil (und hoch porenpermeabel) beschrieben, die Subepidermis scheint in ihrem Verhalten aber mehr der „amidophoben“ Korollröhre nahezukommen (Höfler 1936, 1937).

Es erhebt sich nun in bezug auf Epidermis und Subepidermis des Stengels die Frage, ob die als Lösungsmittel für die Diosmotika wirkenden Plasma-phasen dieser beiden benachbarten Gewebe einen so verschiedenen Chemismus besitzen, daß man — nach älteren Vorstellungen von Höber (1926), Wilbrandt (1931), Collander und Bärland (1933, S. 88) und Höfler (1936) — sagen könnte, daß das Plasma der Epidermis mehr sauren, das der Subepidermis mehr basischen Charakter habe. Oder sollte das Plasma der Epidermis — ähnlich dem der Subepidermis — auch schwach „amidophob“ sein (wenn auch sein Löslichkeitsvermögen höher ist) und nur eine mächtig entwickelte Porenphase dem Harnstoff diese rapide Permeation ermöglichen? Für die letztere Möglichkeit spräche neben der relativ hohen Glyzerinpermeabilität ( $\Delta G = 1,04$ ) auch der gegenüber wirklich stark amidophilen Plasmen wie *Plagiothecium denticulatum* (nach Marklund) geringe Abstand Glyzerin-Methylharnstoff in der Reihe.

Eine Entscheidung in dieser Frage könnte man vielleicht treffen, wenn man die Epidermen solcher Pflanzen, welche die von Höfler (1949) beschriebenen starken Schlechtwetterdepressionen der Harnstoffpermeabilität aufweisen, vergleichend auf die Permeabilitätseigenschaften zumindest von Harnstoff und Glyzerin untersucht. Diese Depressionen führt Höfler für *Gentiana Sturmiiana* wegen der kurzen Dauer und leichten Abklingbarkeit auf alleinige Veränderungen in der Porenweite zurück. An solchen Epidermiszellen beobachtete Höfler  $\Delta G$ -Werte bis unter 0,5 (gegenüber normalen Werten des Materials von durchschnittlich 4,0!).

Würde eine gleichzeitige Permeabilitätsdepression für großmolekulare Diosmotika ausbleiben, was insofern wahrscheinlich sein sollte, als diese nach unserer derzeitigen Kenntnis allein auf den Lösungsweg angewiesen sind, so gäbe dies die Möglichkeit, die „Lösungspermeabilität“ der Epidermis unter Ausschaltung des Einflusses der Porenphase zu untersuchen. Dann müßte es sich zeigen, ob die großmolekularen Amide oder ob das Glyzerin schneller permeieren, insbesondere aber, ob das Glyzerin nun schneller permeiert als der Harnstoff.

Zu den „rapiden Harnstofftypen“ ist abschließend zu sagen, daß diese keineswegs so selten anzutreffen sind, wie vielleicht bisher angenommen



wurde. Schon unter meinen wenigen Versuchspflanzen befinden sich zwei weitere Vertreter dieses Typs (Stengelepidermis von *Taraxacum* [obere Zone] und *Campanula rapunculoides*). In Versuchen im Jahr 1950 habe ich auch an mehreren anderen Objekten (u. a. Epidermiszellen vom oberen Teil des Stengels von *Caltha palustris*, Epidermis des Blütenstiels von *Anemone hepatica*) rapide Harnstoffpermeabilität beobachtet bzw. durch den Vergleich der Permeationsgeschwindigkeiten von Harnstoff und Methylharnstoff nachgewiesen. Ich hoffe, in Kürze über weitere Permeabilitätsstudien berichten zu können.

## V. Zusammenfassung

An Stengeln von *Taraxacum officinale* und anderer krautiger Pflanzen wurde für verschiedene Diosmotika vergleichend das Permeabilitätsverhalten des Protoplasmas von Epidermis und subepidermaler Rindenschicht untersucht. Die Permeabilität der Epidermis war durchaus größer.

Die beobachteten Unterschiede zwischen den beiden benachbarten Schichten halten sich aber meist in gewissen Grenzen. Der Quotient der Rückdehnungsgeschwindigkeiten  $Q = \frac{\Delta G \text{ Epidermis}}{\Delta G \text{ Subepidermis}}$  bleibt im überwiegenden Teil der Fälle unter 4, zumeist sogar unter 3. Differenzen in dieser Größenordnung können noch auf Grund des Löslichkeitsprinzips verstanden werden, sie sind wahrscheinlich auf unterschiedliches Lösungsvermögen der als Lösungsmittel für die Diosmotika wirkenden Plasmaphasen zurückzuführen.

Größere Quotienten wurden nur selten gefunden und betreffen stets nur den Harnstoff. In allen diesen Fällen ist die Epidermis ein „rapider“ Harnstofftyp, d. h. der kleinmolekulare Harnstoff permeiert schneller als der besser lipoidlösliche, aber größermolekulare Methylharnstoff. Dem Harnstoff steht in der Epidermis der „Porenweg“ offen.

Solche rapide Porentypen sind bisher nur in Epidermen beobachtet worden, für die Subepidermis sind sie nicht bekannt. Die hohen Quotienten erklären sich in solchen Fällen wohl daraus, daß der Harnstoff in der Epidermis neben der Förderung gegenüber der Subepidermis, die auf unterschiedlichem Lösungsvermögen beruht, auch noch zusätzlich stark porengefördert ist.

Obwohl auch jetzt noch recht wenige Angaben über Permeabilitätsverteilung in Epidermis und Subepidermis vorliegen, scheint es doch, daß der Quotient bei Glycerintypen höher für Glycerin als für Amide, bei Harnstofftypen höher für Amide als für Glycerin ist.

Im besonderen wurde der Stengel von *Taraxacum officinale* untersucht, an dem sich starke Permeabilitätsunterschiede zeigen. Die schmale, durch die anthokyanhaltige Epidermis rotgefärbte Basalzone zeigt in Epidermis und Subepidermis einen deutlichen Glycerintyp. Dagegen sind im apikalen Stengelteil, wo die Subepidermis anthokyanreich ist, die Plasmen beider Gewebsschichten „amidophil“ und die Epidermis zeigt sogar einen „rapiden Harnstofftyp“.

## Literatur

- Biehl, R., 1948: Permeabilitätsversuche an der Kartoffelpflanze. Öst. Bot. Zeitschr. 95, 129.
- Bogen, H. J., 1938: Untersuchungen zu den „spezifischen Permeabilitätsreihen“ Höflers. Planta 28, 535.
- Collander, R., 1949: The Permeability of Plant Protoplasts to Small Molecules. Physiologia Plantarum 2, 300.
- 1950: The Permeability of *Nitella* Cells to Rapidly Penetrating Non-Electrolytes. Physiologia Plantarum 3, 45.
- und Bärlund, H., 1935: Permeabilitätsstudien an *Chara ceratophylla*. Acta Bot. Fennica 11, 1.
- und Wikström, B., 1949: Die Permeabilität pflanzlicher Protoplaste für Harnstoff und Alkylharnstoffe. Physiologia Plantarum 2, 235.
- Höber, R., 1926: Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 6. Auflage, Leipzig, Engelmann.
- Höfler, K., 1918: Permeabilitätsbestimmung nach der plasmometrischen Methode. Ber. deutsch. Bot. Ges. 36, 414.
- 1932: Vergleichende Protoplasmatik. Ber. deutsch. Bot. Ges. 50, 53.
- 1934 a: Neuere Ergebnisse der vergleichenden Permeabilitätsforschung. Ber. deutsch. Bot. Ges. 52, 355.
- 1934 b: Permeabilitätsstudien an Stengelzellen von *Majanthemum bifolium*. Sitzungsber. Österr. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, 143, 213.
- 1936: Permeabilitätsunterschiede in verschiedenen Geweben einer Pflanze. Mikrochemie, Molisch-Festschrift, S. 224.
- 1937: Spezifische Permeabilitätsreihen verschiedener Zellsorten derselben Pflanze. Ber. deutsch. Bot. Ges. 55, 133.
- 1949: Über Wasser und Harnstoffpermeabilität des Protoplasmas. Phyton 1, 105.
- 1951: Chimärenforschung und Entwicklungsanatomie der Pflanze. Sitzungsanzeiger Österr. Akad. Wiss., math.-nat. Kl. vom 11. III. 1951.
- und Stiegler, A., 1921: Ein auffälliger Permeabilitätsversuch in Harnstofflösung. Ber. deutsch. Bot. Ges. 39, 157.
- und Stiegler, A., 1930: Permeabilitätsverteilung in verschiedenen Geweben der Pflanze. Protoplasma 9, 469.
- Hofmeister, L., 1935: Vergleichende Untersuchungen über spezifische Permeabilitätsreihen. Bibliotheca Botanica. 113.
- 1938: Verschiedene Permeabilitätsreihen bei ein und derselben Zellsorte von *Ranunculus repens*. Jahrb. wiss. Bot. 86, 401.
- 1948: Über Permeabilitätsbestimmung nach der Deplasmolysezeit. Sitzungsber. Österr. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, 157, 83.
- Hurch, H., 1935: Beiträge zur Permeabilitätsverteilung in verschiedenen Geweben des Blattes. Beihefte Bot. Zentralbl. 50, 221.
- Kasy, R., 1951: Untersuchungen über Verschiedenheiten der Gewebescheiden krautiger Blütenpflanzen in Beziehung zu den entwicklungsgeschichtlichen Befunden Hans Winklers an Pfropfbastarden. Sitzungsber. Österr. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., im Druck.
- Klebs, G., 1888: Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle. Unters. Bot. Inst. zu Tübingen II, 489.
- Kreuz, J., 1941: Der Einfluß von Calcium und Kaliumsalzen auf die Permeabilität des Protoplasmas für Glycerin und Harnstoff. Österr. Bot. Zeitschr. 90, 1.

- Marklund, G., 1936: Vergleichende Permeabilitätsstudien an pflanzlichen Protoplasten. Acta Bot. Fennica 18, 1.
- Moder, A., 1932: Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. Protoplasma 16, 486.
- Overton, E., 1895: Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen- und Tierzelle. Vierteljahrsschrift der Naturf. Ges. Zürich 40, 159.
- 1899: Über die allgemeinen osmotischen Eigenschaften der Zelle, ihre vermutlichen Ursachen und ihre Bedeutung für die Physiologie. Vierteljahrsschrift Naturf. Ges. Zürich 44, 88.
- Pecksieder, E. M., 1947: Permeabilitätsstudien an Lebermoosen. Sitzungsber. Österr. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, 156, 521.
- Rottenburg, W., 1945: Die Plasmapermeabilität für Harnstoff und Glycerin in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. Flora, N. F. 37, 251.
- Ruhland, W., 1912: Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. Jahrb. wiss. Bot. 51, 376.
- 1914: Weitere Beiträge zur Kolloidchemie und physikalischen Chemie der Zelle. Jahrb. wiss. Bot. 54, 391.
- und Hoffmann, C., 1925: Die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis*. Ein Beitrag zur Ultrafiltertheorie des Plasmas. Planta 1, 1.
- Schmidt, H., 1936: Plasmolyse und Permeabilität. Jahrb. wiss. Bot. 86, 470.
- 1939: Plasmazustand und Wasserhaushalt bei *Lamium maculatum*. Protoplasma 33, 25.
- Strügger, S., 1935 (2. Aufl. 1949): Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin.
- De Vries, H., 1889: Über die Permeabilität des Protoplasten für Harnstoff. Bot. Zeitung 47, 509 und 527.
- Wahry, E., 1936: Permeabilitätsstudien an *Hippuris*. Jahrb. wiss. Bot. 83, 657.
- Weber, F., 1929: Protoplasmatische Pflanzenanatomie. Protoplasma 8, 291.
- 1930: Permeabilität der Stomata-Zellen. Protoplasma 10, 608.
- 1931: Harnstoff-Permeabilität ungleich alter Stomata-Zellen. Protoplasma 14, 75.
- Wilbrandt, W., 1931: Vergleichende Untersuchungen über die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Anelektrolyte. Pflügers Archiv 229, 86.

# Eine neue Mikromethode zur Bestimmung der Lichtbrechung von Protoplasmatropfen

Von

**Hans H. Pfeiffer**

Laboratorium für Polarisations-Mikroskopie, Bremen

Mit 1 Textabbildung

(Eingelangt am 7. April 1951)

Meiner älteren Bearbeitung der Bestimmungsmethoden der protoplasmatischen Lichtrefraktion [5] habe ich jüngst hinzugefügt je eine weitere Methode, den Brechungskoeffizienten des Protoplasmas aus dem scheinbaren (äußeren) Achsenwinkel des konoskopischen Achsenbildes [7] bzw. aus dem Beckeschen Diffraktionsphänomen an eingeführten mikrurgischen Nadeln bekannter Lichtbrechung [9] zu ermitteln. Hier sei nun kurz dargelegt, wie sich unter Anpassen an den mikroskopischen Größenbereich auch das Prinzip der A. H. L. Fizeauschen Interferenzkurven in der Form der I. Newtonschen Farbenringe, das in der protoplasmatischen und cytologischen Literatur wohl noch niemals dazu herangezogen wurde (vgl. [12; 6]), zur Ermittlung von Refraktionswerten isolierter Protoplasmatropfen eignet.

## Prinzip der Methode

Der gesuchte Brechungskoeffizient  $n$  eines Mediums resultiert bekanntlich auch aus dem Quotienten der Wellenlänge des Lichtes beim Passieren von Luft ( $\lambda_l$ ) bzw. des Mediums ( $\lambda_p$ ):

$$n_p = \lambda_l / \lambda_p. \quad (1)$$

Die beiden Werte der Wellenlängen lassen sich nun nach einem Interferenzverfahren für „Platten“, welche antiparallele, stetig nach außen divergierende Oberflächen haben, leicht ermitteln [13]. An den beiden hintereinander liegenden Flächen senkrecht reflektiertes homogenes Licht erfährt nämlich in den beiden Wellenzügen je nach deren Wegdifferenz, welche als der doppelte Wert der Dicke  $a$  des von den beiden Flächen begrenzten Mediums zu setzen ist, eine Verstärkung oder Schwächung (Interferenz). Weil bei der Reflexion an der Grenze gegen das dichtere Medium eine Phasenänderung um eine halbe Schwingung eintritt, interferieren die beiden Strahlen mit dem Gangunterschiede

$$r = 2a + \frac{\lambda}{2} = k\lambda + \frac{\lambda}{2}. \quad (2)$$

Es entstehen daher beim Akkommodieren auf die Oberfläche Fizeausche

Interferenzkurven gleicher Dicke (oder bei größerer Schichtdicke Newtonsche Ringe). Durch die Wahl einer stetigen Dickenzunahme des eingeschlossenen Mediums muß sich die Phasendifferenz von einer zur benachbarten Interferenzkurve um  $\lambda/2$  ändern.

Zur Bestimmung der Wellenlänge bringe man nun das zu vermessende Medium (Luft, Protoplasma o. a.) zwischen eine Planparallelplatte und eine darauf ruhende Kugelfläche mit dem (großen) Krümmungsradius  $r$  und beleuchte von oben mit homogenem Licht. Wie mit einer Planparallelplatte und divergierenden Lichtbündeln die Young-Fresnelschen Interferenzen [11] Ringe bilden, so treten auch bei unserem Versuche Interferenzringe auf. Zwei von ihnen, denen die Ordnungszahlen  $k_1, k_2$  zukommen mögen, zeigen bei senkrechter Ansicht die Radien  $\varrho_1, \varrho_2$ . Dann hat das Licht in dem Medium zwischen der Ebene und der gekrümmten Fläche, wie sich elementarer ableiten läßt (Abb. 1), die Wellenlänge

$$\lambda = \frac{\varrho_2^2 - \varrho_1^2}{r(k_2 - k_1)} \quad (3)$$

Durch Bestimmen von  $\lambda_l$  für Luft und  $\lambda_d$  für den Protoplasmatropfen als Medien zwischen Planparallelplatte und Kugelfläche resultiert dann der gesuchte Brechungskoeffizient nach Gl. (1).

#### Durchführung des Verfahrens

Benötigt wird ein Objektträger der üblichen Dicke möglichst aus Spiegelglas und ein möglichst stark gekrümmtes Uhrglas, welches etwa in der Mitte auf jenes gelegt wird. Beleuchtet wird von oben mit einer Auflicht-Beleuchtung am Mikroskop, wie einem Ultropak [3] oder einem anderen Opakilluminator. Für den Versuch mit Luft ( $T=273^\circ$ , Luftdruck = 760 mm Hg) als eingeschaltetes Medium setzt man  $\lambda = 1,000,293$  und erhält, wenn ein Sphärometer [1] zur Bestimmung der Krümmung der Kugelfläche nicht verfügbar ist, den Krümmungsradius des aufgelegten Uhrglases für alle Messungen bei der Wellenlänge derselben Lichtquelle  $\lambda$  konstant bleibend zu

$$r = \frac{\varrho_2^2 - \varrho_1^2}{\lambda(k_2 - k_1)} \quad (4)$$

Bei der eigenen Versuchsanordnung ist auf solche Weise  $r = 48,5$  cm gemessen worden. Nunmehr kann für die Versuchsflüssigkeiten (Modellsubstanzen, Protoplasma) bei der gleichen Wellenlänge  $\lambda$  des benutzten Lichtes die Gl. (3) zur Ermittlung der Wellenlänge des Lichtes während des

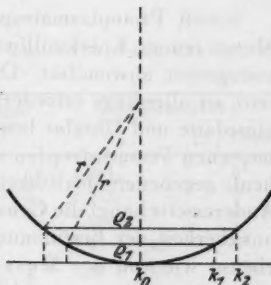


Abb. 1. Zur Ableitung der Gl. (3): Mit einem Interferenzringe des Radius  $\varrho_1, \varrho_2 \dots$  korrespondiert eine Höhe bis zum Krümmungsmittelpunkt der Kugelfläche von  $\sqrt{r^2 - \varrho_1^2}, \sqrt{r^2 - \varrho_2^2} \dots$  oder, weil  $\varrho/r$  sehr klein und gegen  $r$  zu vernachlässigen ist, approximativ von  $r - (\varrho_1^2/2r), r - (\varrho_2^2/2r) \dots$ , d. h. es kann die Höhendifferenz auch als  $\frac{\lambda}{2}(k_2 - k_1) = \frac{\varrho_2^2 - \varrho_1^2}{2r}$  gesetzt werden.

Passierens der Flüssigkeiten angewandt und schließlich nach der Gl. (1) der verlangte Brechungskoeffizient ermittelt werden.

### Anwendungsgrenzen und Meßunsicherheit der Methode

Soweit Protoplasmatropfen ausreichender Homogenität in genügender Menge (einige Kubikmillimeter) zu beschaffen sind, ist die Methode nahezu unbegrenzt anwendbar. Damit hinreichend starke Reflexion auftritt, ist allerdings erforderlich, daß der Brechungskoeffizient der als Plan-  
glasplatte und Uhrglas benutzten Gläser möglichst stark von dem der ver-  
messenen Versuchstropfen abweicht. Diese Vorbedingung ist jedoch bei der  
heute gegebenen Möglichkeit der Auswahl an Gläsern [14] leicht zu erfüllen.  
Andererseits hängt die Genauigkeit der Ergebnisse weitgehend von der Meß-  
unsicherheit der Bestimmung der Flächenkrümmung des Uhrglases  
ebenso wie von der Messung der Radien der gewählten Interferenz-  
ringe ab und ist wegen dieser Voraussetzungen nicht so hoch wie bei an-  
deren Mikroverfahren [7; 9]. Um die Zahl der Längenmessungen herab-  
zusetzen und so die Empfindlichkeit des Verfahrens zu steigern, könnte  
man zwar daran denken, die dunkle Mitte der Interferenzkurven  
mit  $\varrho_1 = 0$  und  $k_1 = 0$  mit heranzuziehen. Das ist aber im allgemeinen den-  
noch nicht ratsam, weil es wegen gewisser Ungenauigkeiten in der Be-  
schaffenheit der Oberfläche sehr häufig nicht zu einer „idealen“ Berührung  
zwischen der Planparallelplatte und der Kugelfläche kommen kann. Daß  
das Verfahren auch bei schneller Durchführung, die einen der wesent-  
lichen Vorteile darstellt, zu recht brauchbaren Ergebnissen führt, zeigen  
die Vorversuche mit einer Reihe von Modellflüssigkeiten (Tab. 1).

### Resultate

Die Versuche mit den Modellsubstanzen, über die Tab. 1 im Auszuge be-  
richtet, lassen erkennen, daß die wie bei konzentrisch angeordneten Kom-

Tab. 1. Erprobung der Methode an Modellflüssigkeiten.

Objekt	$n_C$	$n_D$	$n_F$	Vergleichswerte n. Kohlrausch [4]		
				$n_C$	$n_D$	$n_F$
H <sub>2</sub> O	1,331	1,333	1,334	1,33115	1,33298 <sub>8</sub>	1,33713
C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	1,500	1,502	1,510	1,49633	1,50132	1,51338
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NH <sub>2</sub>	1,580	1,585	1,603	1,57930	1,58616	1,60422
CS <sub>2</sub>	1,618	1,628	1,654	1,61816	1,62769	1,65230

pensatorkeilen der Polarisationsmikroskopie [8] erscheinenden Fizeau-  
schen Interferenzkurven bei Vorhandensein einer für Luft geeigneten Vor-  
richtung aus Planparallelplatte und Uhrglas ein bequem zu handhabendes  
Verfahren ergeben, um schnell eine für biologisch-medizinische Objekte  
hinreichend genaue Bestimmung des Brechungskoeffizienten zu gewähr-  
leisten. Dann aber verdienen auch die entsprechenden Messungen mit ver-



schiedenerlei Protoplastatropfen unser Vertrauen, und es seien daher einige Ergebnisse an den verschiedensten Objekten hier ebenfalls tabellarisch mitgeteilt (Tab. 2). Auch die Unterschiede der Brechungskoeffizienten

Tab. 2.

Ausgewählte Ergebnisse von  $n_D$ -Messungen an Protoplastatropfen.

Objekt	Gemessener $n_D$ -Wert	Vergleichswert	
		$n_D$	Lit.-Anm.
<i>Nitella</i> sp., Zellsaft . . . . .	1,344	{ 1,344 <sub>8</sub> 1,343 <sub>4</sub>	6 <sup>a</sup> 7
<i>Chara</i> , angeschnittene Zelle . . . . .	1,397	1,398 <sub>1</sub>	7
<i>Vaucheria repens</i> , angeschnittene Zelle . .	1,486	1,47 ÷ 1,48	6 <sup>a</sup>
<i>Solanum nigrum</i> , Beerengymnoplasten . .	1,395	{ 1,38 ÷ 1,41 1,393 <sub>8</sub>	6 <sup>a</sup> 7
<i>Amoeba</i> sp. . . . .	1,446	—	—
<i>Amoeba verrucosa</i> . . . . .	—	1,45	2
<i>Physarum</i> , Plasmodium . . . . .	1,394	1,391 <sub>9</sub>	7
<i>Tradescantia</i> , isolierter Protoplast . . . .	1,402	1,400 <sub>6</sub>	7
<i>Hemerocallis</i> , Kernaustrich . . . . .	1,499	1,502	10
<i>Chara</i> , Ausstrich von Spermatozoidkernen	1,472	1,421 <sub>4</sub>	7
<i>Cerebra.ulus</i> , Ei-Protoplasma . . . . .	1,486	—	—
<i>Rhabditis</i> sp., Ei-Protoplasma . . . . .	1,489	—	—

in Abhängigkeit von der Wellenlänge des benutzten Lichtes kommen deutlich zum Ausdruck (Tab. 1) und ermöglichen daher auch Bestimmungen der partiellen Dispersion  $n_D - n_F$ , der mittleren Dispersion  $n_C - n_F$  und der Abbeschen Zahl  $\nu = \frac{n_D - 1}{n_F - n_C}$ , wie an einigen Beispielen in Tab. 3 gezeigt werden möge.

Tab. 3. Abhängigkeit des Brechungskoeffizienten von der Wellenlänge des benutzten Lichtes und daraus folgende Gesetzmäßigkeiten.

Objekt	$n_C$	$n_D$	$n_F$	Partielle Dispersion $n_D - n_F$	Mittlere Dispersion $n_C - n_F$	Abbesche Zahl $\nu = \frac{n_D - 1}{n_F - n_C}$
Benzol $C_6H_6$ . . . . .	1,500	1,502	1,510	—0,008	—0,010	50,2
Anilin $CS_2$ . . . . .	1,618	1,628	1,654	—0,026	—0,036	17,4
<i>Nitella</i> , Zellsaft . . . . .	1,339	1,344	1,358	—0,014	—0,019	18,1
<i>Amoeba</i> sp. . . . .	1,442	1,446	1,458	—0,012	—0,016	27,8
<i>Rhabditis</i> , Ei-Protoplasma . . . . .	1,484	1,489	1,504	—0,015	—0,020	24,4

### Zusammenfassung

Eine bei Gebrauch einer Planparallelplatte und eines Uhrglases auf Ausmessungen an Fizeauschen Interferenzkurven beruhende, an mikroskopische Größenverhältnisse angepaßte Methode des Physikers wird nach Prinzip, Durchführung und Anwendbarkeitsgrenzen behandelt. Es werden vorläufige Ergebnisse an Modellflüssigkeiten und Protoplasmatropfen mitgeteilt.

### Literatur

- [1] Brodhun, E., 1935: In F. Kohlrausch, Praktische Physik, 17. Aufl., 295, 299. Berlin und Leipzig: B. G. Teubner.
- [2] Frederikse, A. M., 1935: Protoplasma 19, 475.
- [3] Heine, H., 1931: Z. wiss. Mikrosk. 48, 450.
- [4] Kohlrausch, F., 1935: Praktische Physik, 17. Aufl., 909. Berlin und Leipzig: B. G. Teubner.
- [5] Pfeiffer, H. H., 1931: Z. wiss. Mikrosk. 48, 47.
- [6] — 1940: Experimentelle Cytologie, 55. Leiden & Waltham: Chron. Bot. Co.; 2<sup>nd</sup> ed. in preparation. — 6<sup>a</sup>: S. 61.
- [7] — 1949: Protoplasma 39, 37.
- [8] — 1949: Das Polarisationsmikroskop als Meßinstrument in Biologie und Medizin, 48 u. f. Braunschw.: Fr. Vieweg & Sohn.
- [9] 1951: La Cellule 54, 41.
- [10] 1951: Expt. Cell Res. 2, 279.
- [11] Pohl, R. W., 1948: Einführung in die Optik, 7.—8. Aufl., 74. Berlin—Göttingen—Heidelberg: Springer-Verlag.
- [12] Schmidt, W. J., 1935: Handb. biol. Arbeitsmeth. (V) 10, 827.
- [13] Schönrock, O., 1935: In Kohlrausch, Praktische Physik, 17. Aufl., 321, 351. Berlin und Leipzig: B. G. Teubner.
- [14] Jenaer Glas für die Optik, Liste der Eigenschaftswerte. Liste 5858, Jenaer Glaswerk Schott & Gen., Jena. — Nachtrag dazu Liste 7233 b: ebendort.

# Studien zur experimentellen Pathologie der Chloroplasten

## II. Untersuchungen über die Streifen- und Näpfchenbildung der Chloroplasten

Von

**Heinz-Herbert Schmidt**

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Münster)

Mit 8 Textabbildungen

(Eingelangt am 17. April 1951)

### Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung . . . . .	507
B. Streifen- und Näpfchenbildung bei Chloroplasten . . . . .	508
I. Methodik . . . . .	508
II. Die Streifung der Chloroplasten . . . . .	509
1. Kulturversuche mit Rhodamin B . . . . .	509
2. Kulturversuche mit Methylgrün und Kristallviolett . . . . .	512
III. Näpfchenbildung bei Chloroplasten . . . . .	514
1. Kulturversuche mit Pyrenderivaten . . . . .	514
2. Kulturversuche mit quartären Phosphoniumverbindungen . . . . .	519
IV. Besprechung der Ergebnisse . . . . .	520
1. Die Streifung der Chloroplasten . . . . .	520
2. Die Näpfchenbildung der Chloroplasten . . . . .	522
C. Zusammenfassung der Ergebnisse . . . . .	523
D. Literatur . . . . .	524

### A. Einleitung

Seit den Arbeiten von Heitz (1932, 1936 a u. b), Hubert (1935), Dautreligne (1935), Wieler (1936), Weier (1936 a u. b), Geitler (1937), Frey-Wyssling (1938 a u. b), Menke und Koydl (1939), Menke (1940 a u. b), Kausche und Ruska (1940), Roberts (1942) und Strugger (1947 a u. b, 1950) besteht kein Zweifel mehr darüber, daß zahlreichen Chloroplasten auch im ungeschädigten Zustand eine mikroskopisch sichtbare Struktur zukommt und daß sowohl homogen erscheinende wie auch Grana führende Chloroplasten wie der ideale Wienersche Schichtenkörper aus durchgehenden Lamellen aufgebaut sind, die abwechselnd aus Lipoiden

und Proteiden zusammengesetzt sein dürften und in ihrer Ausdehnung unterhalb des Auflösungsbereiches des Lichtmikroskopes liegen (vgl. Strugger 1947 b).

Von dieser Inhomogenität der Chloroplasten ausgehend, ist die Streifung der Plastiden, die schon sehr früh von zahlreichen Autoren beschrieben wurde (zusammenfassende Literatur bei Küster 1937), erneut einer näheren Betrachtung wert.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit soll es daher sein, eine experimentell zuverlässige Streifung der Chloroplasten hervorzurufen, die erkennen läßt, ob die Streifenbildung der Chloroplasten nur als Artefakt aufzufassen ist oder ob es sich um eine Vergrößerung eines schon vorhandenen, submikroskopisch dimensionierten Systems handelt, das durch eine Veränderung des Aggregatzustandes, des Lichtbrechungsvermögens, der Quellung, der Färbung usw. in den Bereich der mikroskopischen Auflösbarkeit gelangt. Außerdem wird aber auch die Näpfchenbildung bei Chloroplasten, über deren Entstehung nur spärliche Berichte vorliegen (vgl. Küster 1937), einer erneuten Analyse unterzogen.

## B. Streifen- und Näpfchenbildung bei Chloroplasten

### I. Methodik

Bei den folgenden Untersuchungen fanden Sprosse von *Helodea canadensis* und *Helodea densa* Verwendung. *Helodea canadensis* wurde zunächst, um möglichst gleichwertiges Material zu erhalten, in einem Becken vorkultiviert. Nur gleichaltrige, etwa 10–20 cm lange Sprosse wurden jeweils in die entsprechende Versuchslösung übertragen. Als Kontrolle dienten Sprosse in reinem Leitungswasser. Die Kulturgefäße wurden, vor direktem Sonnenlicht geschützt, im Versuchsgewächshaus des Botanischen Institutes aufgestellt. Veränderungen der Sprosse und der Blätter sowie der Plastiden wurden laufend protokolliert und mit der Kontrolle verglichen. *Helodea densa* wurde vergleichsweise zu Untersuchungen herangezogen. Die Sprosse von *Helodea densa* stammten zum größten Teil aus den Gewächshäusern des Botanischen Gartens.

Bei den Untersuchungen wurde vor allem Wert darauf gelegt, nur solche Veränderungen an Chloroplasten hervorzurufen, die in lebenden Zellen auftraten und nicht als postmortale Veränderungen aufzufassen waren. Es wurde daher besonders auf die Plasmaströmung geachtet, da ja bei vorhandener Strömung sich mit unbedingter Sicherheit sagen läßt, daß die Zellen leben. War eine Plasmaströmung nicht zu beobachten, so wurde die Vitalität der Zellen durch Plasmolyse mit  $\text{KNO}_3$  oder Glukose geprüft. Oft ließ sich aber eine einwandfreie Aussage über den Zustand der Zellen auch bei der Plasmolyse derselben nicht machen. So konnten verschiedentlich Scheinplasmolysen beobachtet werden (vgl. Hanssen 1947 und Strugger 1949). Die Akridinorangefärbung zur Unterscheidung lebender und toter Zellen lieferte wegen der starken roten Eigenfluoreszenz des Chlorophylls nicht immer einwandfreie Bilder. Es wurde daher in vielen Fällen die Pyroninmethode benutzt. Pyronin zeigt im Hellfeld bei lebenden Zellen nur eine

Membranfärbung, bei geschädigten oder toten Zellen eine sich steigende Tingierung des Plasmas, der Kerne und der Chloroplasten (vgl. Drawert 1940, Strugger 1941, Hanssen 1947). Die Pyroninmethode konnte in allen Versuchen, bei denen nicht schon durch die Verwendung von Farbstoffen eine Anfärbung des Plasmas oder der Membranen beobachtet wurde, mit Erfolg verwendet werden.

## II. Streifung der Chloroplasten

### 1. Kulturversuche mit Rhodamin B

Strugger (1937 a u. b) fand in dem Farbstoff Rodamin B ein Fluorochrom, das sich in besonderem Maße dazu eignet, die Chloroplasten vital anzufärben. Rhodamin B gehört zu den schwach dissoziierten Farbstoffen und kann praktisch als elektroneutral bezeichnet werden (Strugger 1937 a u. b, Drawert 1939, Kölbel 1948). Wegen der starken Lipidlöslichkeit des Fluorochroms zeigen in den Chloroplasten vor allem die Grana eine elektive Anfärbung. Da die Färbung mit Rhodamin B keine Schädigungen der Zelle hervorruft, wird dieser Färbungsmodus nach Strugger (1937 a) als inturbant bezeichnet. Weber (1937) konnte zeigen, daß die Chloroplasten von *Helodea* auch nach 48stündiger Anfärbung mit Rhodamin B ihre Doppelbrechung nicht einbüßen, während bei der perturbanten Färbung mit Rhodamin 6 G die Doppelbrechung nach einigen Stunden erlischt. Pirson und Alberts (1940) wenden sich dagegen, die Anfärbung mit Rhodamin B als inturbant zu bezeichnen, mit der Begründung, daß einige Zeit nach der Anfärbung eine Assimilationshemmung einsetzt. Nach Gessner (1941) beruht diese Assimilationshemmung auf einem photodynamischen Effekt. Die Hemmung tritt nämlich nur dann auf, wenn die Anfärbung der Sprosse im Licht erfolgt, nicht dagegen bei einer Anfärbung im Dunkeln. Die Assimilationshemmung ist nach seiner Ansicht nicht auf eine direkte Giftwirkung des Rhodamin B zurückzuführen.

Da bislang noch keine Untersuchungen darüber vorlagen, wie Sprosse von *Helodea* sich bei längerer Kultur in Rhodaminlösungen verhalten, wurden Versuche in dieser Richtung angesetzt.

In stärkeren Konzentrationen waren die Sprosse bereits nach wenigen Tagen bis auf die Spitzenblätter abgestorben. Erst in einer Konzentration von 1:1.000.000 in Leitungswasser blieben sie einige Wochen am Leben. Die älteren, vollausgebildeten Blätter zeigten aber auch in dieser Konzentration schon nach einer Woche leichte oder starke Schädigungen vor allem in den Blattspitzen. Im Verlaufe von zwei bis drei Wochen starben diese Blätter dann bis auf die Basiszellen und bis auf einige Zellen der Mittelrippe ab. Etwas früher waren in den meisten Fällen die Blätter dicht unterhalb der Knospenregion abgestorben. Am resistentesten waren die ganz jungen, noch nicht völlig ausgebildeten Blätter.

Nach 1—2 Tagen zeigten lediglich die Grana der Chloroplasten jener Sprosse, die in einer Rhodamin-B-Lösung (1 : 1.000.000) kultiviert wurden, eine Anfärbung; in der Blattoberseite trat außerdem eine schwache, diffuse Vakuolenfärbung auf. Das Plasma befand sich in den meisten Fällen in lebhafter Bewegung. Einige tote Zellgruppen ließen eine intensive Rotfärbung des Plasmas, der Kerne und der Plastiden erkennen.

Nach 2—3 Tagen verschwand die Granastruktur der Chloroplasten völlig. In der Seitenansicht trat dabei eine leichte Streifung auf, die in den folgen-

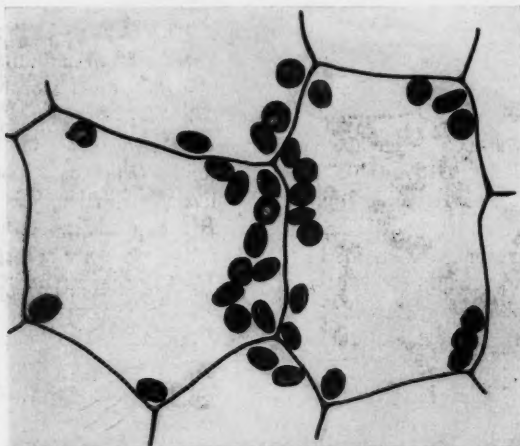


Abb. 1. Blattzellen der Oberseite von *Helodea canadensis*. Streifung der Chloroplasten nach 4tägiger Kultur in Rhodamin B. (Nach der Natur mit dem Zeichenapparat gezeichnet.)

den Tagen immer deutlicher wurde. Vor allem in den Mittagsstunden oder nach kurzer intensiver Belichtung trat sie am deutlichsten hervor. Das Plasma befand sich in den meisten Zellen in lebhafter Bewegung. Die Stärke der Streifenbildung war in den einzelnen Blattbezirken recht unterschiedlich. In der Blattspitze war sie am deutlichsten sichtbar und ließ zur Blattbasis hin allmählich nach. Hier blieb die normale Struktur sehr lange erhalten. Nach 3—4 Tagen wurde die Streifung sowohl in der Blattoberseite wie auch in der Blattunterseite viel deutlicher (siehe Abb. 1 u. 2). Während in den Vakuolen der Blattoberseite eine krümelige Speicherung des Farbstoffes zu beobachten war, ließen die Vakuolen der Blattunterseite im Hellfeld keine Farbstoffaufnahme erkennen. Eine Plasmaströmung war immer noch sichtbar. Die Streifung trat nur bei den Plastiden der vollausgewachsenen Blätter, nie dagegen bei den Plastiden der jugendlichen, noch nicht völlig ausdifferenzierten Blätter der Spitzenregion auf.



Nach 4—6 Tagen begannen die alten Blätter von der Spitze her abzustarben. Auf eine Zone, in der sowohl der Kern, die Chloroplasten wie auch das Plasma eine intensive Rotfärbung zeigten, folgte eine Zone, in der weder Plasma noch Kern im Hellfeld gefärbt erschienen. Dagegen zeigten die Chloroplasten eine olivgrüne Färbung. Diese olivgrün gefärbten Chloroplasten ließen die Streifen besonders deutlich erkennen (Abb. 3). Die Plasmaströmung ließ keinen Zweifel darüber auftreten, daß die Zellen noch am Leben waren.

Die Streifen selbst waren nicht auf eine Veränderung der Oberfläche der

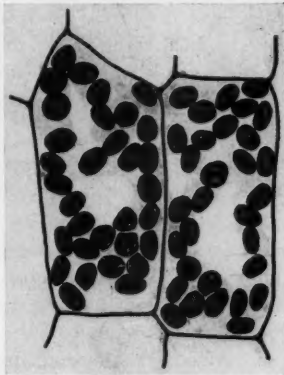


Abb. 2. Blattzellen der Unterseite von *Helodea canadensis*. Streifung der Chloroplasten nach 4tägiger Kultur in Rhodamin B. (Nach der Natur mit dem Zeichenapparat gezeichnet.)

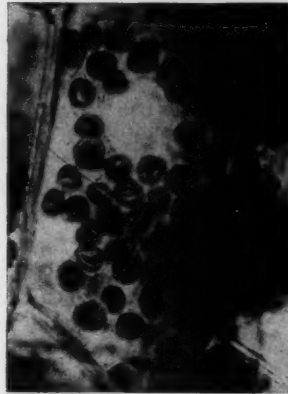


Abb. 3. *Helodea canadensis*. Streifenbildung nach 5tägiger Kultur in Rhodamin B (1 : 1,000.000 in Leitungswasser).

Chloroplasten zurückzuführen; sie ließen sich vielmehr als Lamellen durch den gesamten Chloroplasten verfolgen und verliefen in der Seitenansicht in allen Fällen gradlinig oder leicht geschwungen (Abb. 3). Oft kam es zur Aufspaltung der größeren Streifen in zwei oder drei feinere. Ganz vereinzelt ließen sich Chloroplasten beobachten, die eine ähnliche, irisblendenartige Struktur aufwiesen, wie sie Hofmeister (1867) für *Bryopsis* nach Untersuchungen von Rosanoff beschreibt (vgl. Abb. 1 u. 2).

Im Verlaufe der nächsten Tage und Wochen verschob sich die absterbende Blattzone immer mehr zur Blattbasis hin. Nach 3—4 Wochen waren die Sprosse gewöhnlich bis auf die jungen Blätter abgestorben.

Übertrag man die Sprosse nach 2—3tägiger Kultur aus den Versuchsgefäßen in reines, täglich erneuertes Leitungswasser, so entfärbten sich die Sprosse nach 2—3 Tagen durch Exosmose völlig. Dabei blieben die Chloroplasten zunächst streifig. Die Streifung wurde aber im Verlaufe der näch-

sten Tage immer geringer. Nach etwa 10–14 Tagen war der weitaus größte Teil der Chloroplasten wieder normal und zeigte typische Granastruktur. Die Sprosse wuchsen in Leitungswasser kräftig weiter, bildeten neue Seitensprosse und zeigten kaum eine Abweichung von der Kontrolle. Daß es sich bei den Chloroplasten, die wieder eine normale Struktur zeigten, um vorher angefärbte und streifige Plastiden handelte, zeigten einige Zellkomplexe, die vor der Behandlung mit Rhodamin B mechanisch getötet wurden. In diesen Zellen behielten das Plasma, die Kerne und die Plastiden auch nach längerer Kultur in reinem Leitungswasser ihre Anfärbung.

Die Streifenbildung war aber nur nach 2–5tägiger Kultur in Rhodamin B wieder rückgängig zu machen und wurde irreversibel, wenn Sprosse zu einem Zeitpunkt in Wasser übertragen wurden, in dem bereits die Spitzenzellen alter Blätter leichte Schädigungen zeigten. In diesem Falle konnten sich die Sprosse nicht wieder erholen und gingen meist etwas später als die Versuchspflanzen in Rhodaminlösung ein. Nur die jungen Seitensprosse wuchsen weiter und bildeten neue, kräftige Sprosse.

Um die Frage zu klären, ob die Streifung der Chloroplasten durch einen photodynamischen Effekt hervorgerufen wurde, wurden folgende Versuche durchgeführt:

1. Sprosse von *Helodea canadensis* wurden in ein Gefäß (500 cm<sup>3</sup>) mit Rhodaminlösung (1 : 1.000.000) übertragen. Dieses Gefäß wurde in ein zweites, größeres Gefäß gesetzt, das mit einer Rhodaminlösung (1 : 1000) gefüllt wurde, so daß nur gefiltertes Licht zu den Sprossen gelangen konnte. War das Rhodamin B photodynamisch wirksam, so durfte nach Ausschaltung des wirksamen Spektralbereiches durch das Rhodaminfilter keine Streifung der Chloroplasten mehr erfolgen.

2. Sprosse von *Helodea canadensis* wurden in ein Gefäß (500 cm<sup>3</sup>) mit Rhodamin-B-Lösung (1 : 1.000.000) übertragen und in ein zweites, größeres Gefäß mit Leitungswasser gesetzt.

3. Sprosse von *Helodea canadensis* wurden in ein Gefäß (500 cm<sup>3</sup>) mit Rhodamin-B-Lösung (1 : 1.000.000) übertragen und unter dem Dunkelsturz aufbewahrt.

Ergebnis: Sowohl in Versuchsreihe 1 wie auch in Versuchsreihe 2, die beide dem diffusen Tageslicht ausgesetzt waren, traten dieselben Erscheinungen auf, wie sie vorher beschrieben wurden: Nach 2–3 Tagen trat eine deutliche Streifung auf, die sich in den nächsten Tagen noch verstärkte. In der Versuchsreihe 3 blieb die Granastruktur hingegen länger erhalten. Erst nach mehreren Tagen trat hier eine Schädigung der Plastiden ein.

Aus diesem Versuch darf man wohl den Schluß ziehen, daß die Streifenbildung der Chloroplasten in Rhodamin-B-Lösungen nicht auf einem photodynamischen Effekt beruht, da auch bei Ausschaltung des photodynamisch wirksamen Lichtes durch das Rhodaminfilter eine Streifung auftrat. Da nach Gessner (1941) im Dunkeln angefärbte Sprosse anfänglich noch assimilieren, ist es möglich, daß das Rhodamin B einen Einfluß auf die bei der

Assimilation entstehenden Zwischenprodukte ausübt und dadurch eine Veränderung der normalen Chloroplastenstruktur hervorruft.

## 2. Kulturversuche mit Methylgrün und Kristallviolett

Ebenso wie in Rhodamin-B-Lösungen trat auch in Methylgrün- und Kristallviolettlösungen eine Streifung der Chloroplasten auf. Beide Farbstoffe gehören zu den Triphenylmethanfarbstoffen. Nach Drawert (1940) tritt bei beiden in Kataphoreseversuchen zwischen  $p_H$  7 und  $p_H$  11,5 keine eindeutige Wanderung auf. Beide Farbstoffe sind in Toluol so gut wie gar nicht, in Chloroform und Toluol plus Ölsäure quantitativ löslich.

Bei den Kulturversuchen von *Helodea canadensis* in einer Methylgrünlösung von 1:100.000 in Leitungswasser traten bereits nach 24 Stunden in den Chloroplasten Streifen auf. Die Plasmaströmung war in den meisten Fällen sehr lebhaft. Nach 2–3 Tagen nahm die Lamellierung sehr stark zu. Ebenso wie in Rhodaminlösungen traten auch in Methylgrünlösungen die Lamellen am deutlichsten um die Mittagszeit oder nach kurzer intensiver Belichtung auf. Der Gradient in der Stärke der Lamellierung war bei den Blättern ebenso vorhanden wie bei den Rhodamin-B-Versuchen. Nach 2–3 Wochen lebt nur noch die Basiszellen alter Blätter sowie jüngere Blätter.

Bewahrte man Sprossen in Leitungswasser, dem Methylgrün im Verhältnis 1:100.000 zugesetzt war, unter dem Dunkelsturz auf, so trat auch nach Tagen eine Lamellierung der Chloroplasten nicht ein.

Da in den einzelnen Blättern oft neben Zellen, die tot oder zumindest geschädigt waren (Blattspitze), andere mit streifigen Chloroplasten (Blattmitte) und solche mit normalen Chloroplasten (Blattbasis) auftraten, war es schwierig zu entscheiden, ob die gestreiften Plastiden noch assimilationsfähig waren. Sowohl mit der Blasenählmethode wie mit der Winklermethode der  $O_2$ -Bestimmung konnte ein Nachlassen der Assimilation durch die Behandlung mit Methylgrün festgestellt werden. Das besagte aber noch nicht, daß die gestreiften Chloroplasten nicht mehr assimilationsfähig waren, da das Nachlassen der Assimilation durch das Vorhandensein geschädigter oder toter Spitzenzellen hervorgerufen sein konnte. Bei einzelnen Chloroplasten ließ sich aber eine Aussage über ihre Assimilationsfähigkeit auf diese Weise nicht machen. Nach den Beobachtungen von Lärz (1942) und Hanssen (1947) findet in Nikotin- oder Cocainlösungen eine progressive Vakuolenbildung der Chloroplasten nur bei Belichtung statt, so daß ein Zusammenhang zwischen dem Grad der Vakuolisierung und der Assimilation vermutet werden kann. Wie aus dem ersten Teil dieser Arbeit (Schmidt 1950) hervorgeht, besteht die Möglichkeit, bei *Helodea*-Sprossen die Assimilationsfähigkeit einzelner Chloroplasten zu prüfen, da nur bei assimilierenden Chloroplasten eine Aufblätterung und Vakuolenbildung auftritt, wenn die Sprosse in Alkaloidlösungen belichtet werden. Versuche mit Nikotin zeigten nun, daß eine Vakuolenbildung der gestreiften Plastiden bei der

Belichtung mit 15.000 Lux eintrat. Während sich in den Blattspitzen die Chloroplasten nicht veränderten, machte sich zur Basis hin eine immer stärker werdende Vakuolisierung bemerkbar. Es zeigte sich, daß selbst in der Blattzone, in der schon eine intensive Streifung zu erkennen war, in der also zumindest die normale Struktur der Chloroplasten weitgehend verändert sein mußte, noch Vakuolenbildung auftrat. In einzelnen Zellen blätterten die Chloroplasten bei Beginn der Vakuolisierung sehr stark auf, ungefähr so, wie Strugger (1947 a) es bei der Aufquellung mit KCNS im Phasenkontrastmikroskop beobachten konnte. Auf Grund der Tatsache, daß in Methylgrün streifig gewordene Chloroplasten in Nikotinlösungen zur Vakuolenbildung veranlaßt werden konnten, läßt sich mit ziemlicher Sicherheit vermuten, daß selbst streifige Plastiden noch assimilieren können. Quantitative Aussagen lassen sich auf Grund dieser Untersuchungen jedoch nicht machen.

Dieselben Erscheinungen, wie sie Methylgrün hervorruft, ließen sich auch durch Kristallviolett erzielen. In stärkeren Konzentrationen starben die Sprosse sehr schnell. Erst bei einer Verdünnung von 1 : 1.000.000 blieben sie mehrere Tage am Leben. Die Streifung selbst war zum Teil noch intensiver als in Methylgrünlösungen. In den lebenden Zellen war der Farbstoff in erster Linie als körniger Niederschlag in den Vakuolen gespeichert. In den toten Zellen trat eine starke violette Färbung der Kerne, der Plastiden und des Plasmas auf.

### III. Näpfchenbildung bei Chloroplasten

#### 1. Kulturversuche mit Pyrenderivaten<sup>1)</sup>

Bei den Versuchen, eine intravitale Veränderung der Chloroplasten von *Helodea* durch verschiedene Chemikalien zu erzielen, zeigten besonders einige Pyrenderivate eigenartige Ergebnisse. Die Präparate, die von den Farbfabriken Bayer stammten, erwiesen sich in höheren Konzentrationen als sehr starke Zellgifte. Erst bei einer Verdünnung von 1 : 2.000.000 bis 1 : 10.000.000 in Leitungswasser blieben die Sprosse längere Zeit lebensfähig.

Sprosse, die mit dem Präparat 949 in einer Verdünnung von 1 : 10.000 und 1 : 100.000 angesetzt wurden, waren nach ein bis zwei Tagen völlig abgestorben. Erst bei einer Konzentration von 1 : 1.000.000 bis 1 : 2.000.000 blieben sie längere Zeit am Leben, ohne aber ein Wachstum zu zeigen. Nur ganz vereinzelt bildeten sich Seitensprosse, sie blieben aber im Vergleich zur Kontrolle bedeutend kleiner. Selbst bei einer Verdünnung von 1 : 5.000.000 bis 1 : 10.000.000 erfolgte noch eine Hemmung des Wachstums. Erst bei einer Konzentration von 1 : 20.000.000 war eine Abweichung von den Kontrollsprossen nicht mehr zu beobachten.

<sup>1)</sup> Herr Prof. Dr. Otto Bayer, Farbfabriken Bayer, Leverkusen, hatte die Freundlichkeit, mir zur Durchführung dieser Untersuchungen die Pyrenderivate besonders herzustellen. Ich möchte Herrn Prof. Bayer dafür meinen herzlichen Dank zum Ausdruck bringen.

Die Plastidenanomalien ließen sich am günstigsten hervorrufen in einer Konzentration von 1 : 2.000.000 in Leitungswasser. In dieser Konzentration verschwand nach ein bis zwei Tagen die Granastruktur der Chloroplasten völlig. Die Chloroplasten erhielten in der Aufsicht ein homogenes, teilweise wolkenartiges Aussehen; in der Seitenansicht trat dabei eine leichte Streifung auf, die in der Kontrolle nicht sichtbar war. Besonders schön ließ sich diese Streifung im Rotlicht oder im Grünlicht erkennen. Sehr eindrucksvolle Bilder ergaben sich auch, wenn die Chloroplasten mit Rhodamin B angefärbt wurden. In diesem Falle hoben sich die Streifen besonders gut hervor. Nach 2—3 Tagen konnte man beobachten, daß einige Chloroplasten in der Seitenansicht eine leichte Krümmung zeigten und dabei eine etwas mondsichelförmige Gestalt annahmen. Die Strömung war in diesen Zellen recht lebhaft und äußerte sich in vielen Fällen durch eine rasche Rotationsströmung. Die Bläschenbildung der Sprosse sowie die Bildung kleiner Stärkekörner in den leicht streifigen und gekrümmten Chloroplasten zeigten deutlich, daß die Sprosse noch assimilierten. Im Laufe der nächsten Tage wurde die Streifung in der Seitenansicht immer noch ausgeprägter, die Anzahl der Streifen dagegen geringer, so daß es den Anschein hatte, als wenn einzelne Lamellen miteinander verschmolzen. Es ließen sich verschiedentlich Lamellen erkennen, die sich in mehrere feinere Lamellen aufzweigten. Neben dieser verstärkten Streifenbildung nahm auch die Zahl der mondsichelförmig gekrümmten Chloroplasten erheblich zu. Die Krümmung selbst war zum Teil etwas stärker geworden.

Nach 4—5 Tagen traten dann die

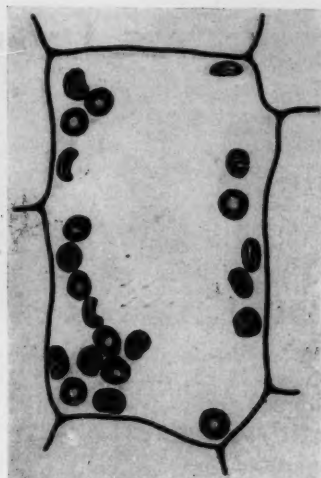
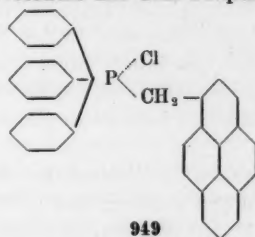


Abb. 4. *Helodea canadensis*. 4 Tage im Pyrenpräparat 949 kultiviert. Starke Krümmung und Streifung der Chloroplasten. Erstes Auftreten von näpfchenförmigen Chloroplasten. (Nach der Natur mit dem Zeichenapparat gezeichnet.)

#### Kulturversuche mit dem Präparat 949





ersten typischen Napfformen der Chloroplasten vor allem in der Spitze der Blattoberseite sowie in den meisten Zellen der Blattunterseite auf (siehe Abb. 4). Die Krümmung der Chloroplasten hatte dabei so stark zugenommen, daß die Ränder sich fast berührten und nur in der Mitte einen Porus frei ließen. In der Aufsicht erscheint dieser Porus als heller Hof, der von einem dunkelgrün gefärbten Kranz umsäumt wird. Auf diese Weise entstehen Bilder, die eine gewisse Ähnlichkeit mit den Hoftüpfeln der Tracheiden von Nadelhölzern aufweisen. In der Seitenansicht gleichen die Chloroplasten dabei kleinen Näpfchen. Die Streifung war bei den meisten

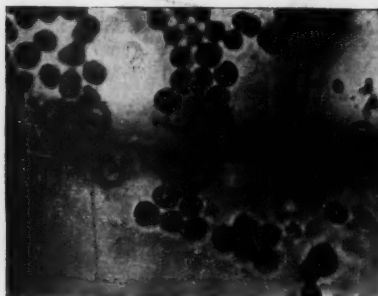


Abb. 5. *Helodea canadensis*. 6 Tage im Pyrenpräparat 949 kultiviert. Zellen aus der Blattoberseite mit näpfchenförmig veränderten Chloroplasten.



Abb. 6. *Helodea canadensis*. 6 Tage im Pyrenpräparat 949 kultiviert. Zellen aus der Blattoberseite mit näpfchenförmigen Chloroplasten. Plasmolysiert mit 0,7 mol.  $\text{KNO}_3$ .

Chloroplasten zur Konkavseite hin am dichtesten und verlief kontinuierlich von der Vorder- zur Rückseite. Auf der Konvexseite waren die Streifen gelockerter und gingen vielfach nicht mehr als zusammenhängende Lamellen von der Stirn- zur Rückseite durch, so daß es den Anschein hatte, als wenn sie gerissen wären. Im Verlaufe der Tage nahm die Zahl der Näpfchen in den Blättern ständig zu, so daß fast alle Chloroplasten eine leichte oder starke Krümmung zeigten (Abb. 5). In der Blattbasis und in der Mittelrippe setzte die Näpfchenbildung erst relativ spät ein. Sonst war ein Unterschied zwischen den einzelnen Blattregionen kaum zu erkennen. Plastiden, die dicht nebeneinander lagen, platteten sich an den Berührungsstellen gegenseitig ab und ließen zwischen sich immer einen deutlich sichtbaren helleren Streifen erkennen, der anscheinend durch die Plastidengrenzschicht hervorgerufen wurde. Mit 0,7 mol  $\text{KNO}_3$  ließen sich alle Zellen gut plasmolysieren (Abb. 6).

Nach zwei Wochen begannen die Blattspitzen abzusterben. Dabei agglutinierten die Chloroplasten und verloren zum größten Teil ihre Farbstoffe. Zur Basis hin entstanden in den Blättern, bei denen die Spitzenpartien tot



waren, oft eigenartig gelappte oder amöboidartig geformte Plastiden. Das Chlorophyll war in diesen Amöboidformen in der verschiedensten Weise lokalisiert: So traten zwei oder auch drei hellere Höfe auf, oder es bildeten sich spiralartig oder S-förmig gezeichnete Chloroplasten (Abb. 7). Bei der Plasmolyse mit 0,6 mol.  $\text{KNO}_3$  schrumpften die Chloroplasten teilweise leicht zusammen und veränderten dabei weitgehend ihre Gestalt.

Nach etwa 3–4 Wochen war der größte Teil der Sprosse abgestorben. Nur wenige Zellen der Blattbasis, der Mittelrippe sowie junge Blätter lebten noch.

Sprosse, in denen nur vereinzelt Näpfchenformen auftraten, starben bei der Weiterkultur in reinem Leitungswasser meist in wenigen Wochen ab. Eine Rückbildung der Näpfchenformen konnte weder im Dunkeln noch im Hellen beobachtet werden. Es hatte viel eher den Anschein, als wenn selbst in Leitungswasser die vorbehandelten Sprosse noch zur Näpfchenbildung neigten.

Führte man dieselben Kulturversuche mit *Helodea canadensis* im Dunkeln durch, so traten ähnliche Erscheinungen wie in den Hellversuchen auf, nur mit dem Unterschied, daß die Granastuktur der Chloroplasten dabei weitgehend erhalten blieb.

Versuche mit *Helodea densa* führten zu ähnlichen Ergebnissen wie die Kulturen mit *Helodea canadensis*. *Helodea densa* war aber gegen die Einwirkung des Präparates 949 weitaus empfindlicher und starb in den meisten Fällen früher als *Helodea canadensis* ab.

Es muß noch bemerkt werden, daß des öfteren auch eine Verschiebung der zeitlichen Reihenfolge im Auftreten der Näpfchenformen festzustellen war. Bei einigen Versuchen traten die Näpfchen schon nach kurzer Zeit, bei anderen erst nach längerer Einwirkung des Pyrenderivates auf. Ebenso zeigten sich auch einige Sprosse gegenüber dem Präparat weit resistenter und starben erst nach einigen Wochen ab, während andere oft schon nach einer Woche starke Schäden aufwiesen. Dieser Unterschied wird zum großen Teil wohl darin zu suchen sein, daß *Helodea*-Sprosse trotz ihrer morphologischen Gleichheit doch wesentliche Schwankungen hinsichtlich ihres physiologischen Verhaltens zeigen, die sowohl jahreszeitlich wie auch alters-

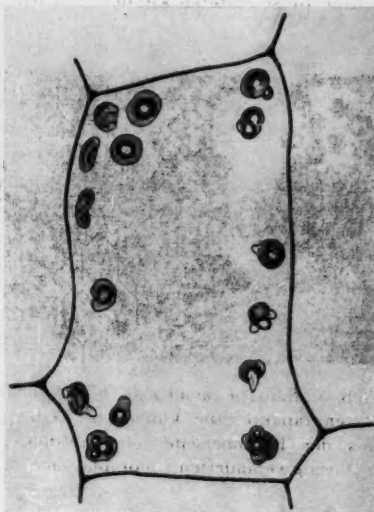
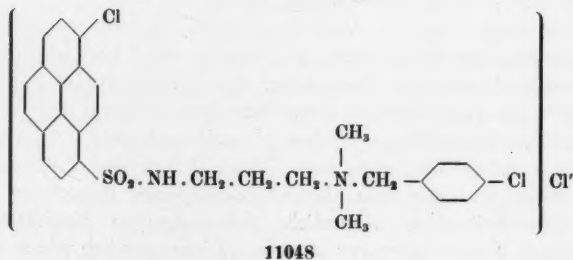
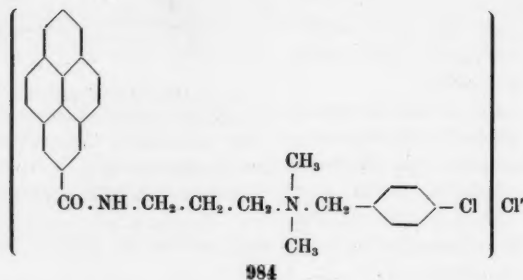
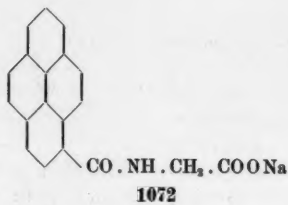
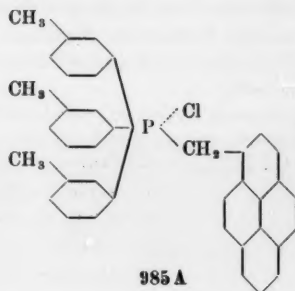
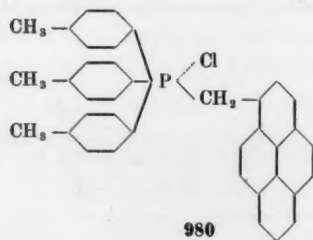


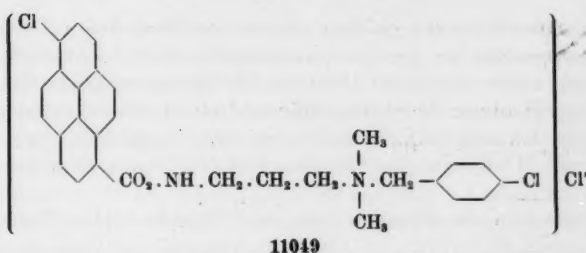
Abb. 7. *Helodea canadensis*. Zelle aus der Blattbasis (Blattoberseite) mit amöboidartig veränderten Chloroplasten. 12 Tage im Pyrenpräparat 949 kultiviert. (Nach der Natur mit dem Zeichenapparat gezeichnet.)

mäßig bedingt sein dürften. Näpfchenbildung trat aber in allen angesetzten Kulturversuchen auf.

### Kulturversuche mit weiteren Pyrenderivaten

Außer dem Präparat 949 wurden noch folgende Pyrenderivate untersucht:

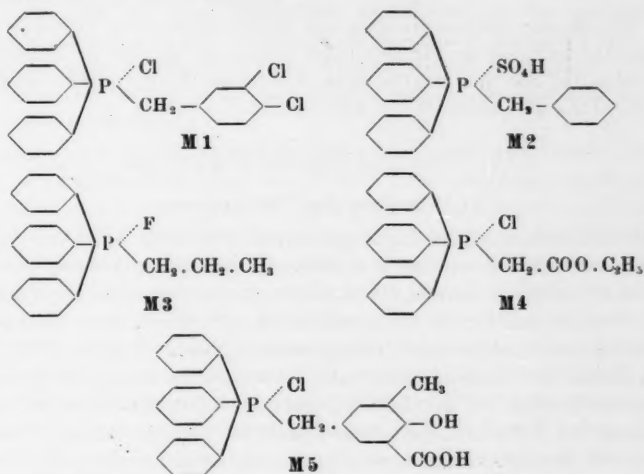




Bei den Pyrenderivaten 980 und 985 A traten die gleichen Erscheinungen auf, wie sie sich in den Kulturen mit dem Präparat 949 zeigten. Dagegen war bei den Pyrenderivaten 984, 1072, 11 048 und 11 049 keine Streifenbildung und ebenfalls keine Näpfchenbildung zu erzielen, obgleich sie sich bis auf das Präparat 1072 als ebenso giftig erwiesen wie die vorher genannten Pyrenderivate. Auffallend war aber, daß alle wirksamen Pyrenderivate außer dem Pyrenteil noch einen quartären Phosphoniumteil besaßen.

## 2. Kulturversuche mit quartären Phosphoniumverbindungen

Um die Frage zu klären, ob die Näpfchenbildung mehr auf den Pyrenteil oder mehr auf den Phosphoniumteil zurückzuführen war, wurden weitere Kulturversuche mit quartären Phosphoniumverbindungen, die freundlicherweise von den Farbfabriken Bayer zur Verfügung gestellt wurden, angesetzt. Folgende fünf Präparate wurden näher untersucht:



Es zeigte sich, daß die Präparate M 1 und M 2 dieselben Erscheinungen hervorriefen wie die Präparate 949, 980 und 985 A. Die benutzten Konzen-

trationen waren dabei die gleichen wie bei den Versuchen mit den Pyren-derivaten. Vor allem bei dem Phosphoniumpräparat M 2 war die Näpfchenbildung sehr schön ausgeprägt (Abb. 8). Die Sprosse selbst blieben in den M-2-Lösungen längere Zeit lebensfähig und machten einen vitaleren Eindruck als in den anderen Präparaten. Bei den Phosphoniumverbindungen M 3, M 4 und M 5 konnte eine Streifung und Näpfchenbildung nicht erzielt werden.

Vergleicht man alle Präparate, die eine Näpfchenbildung hervorrufen,

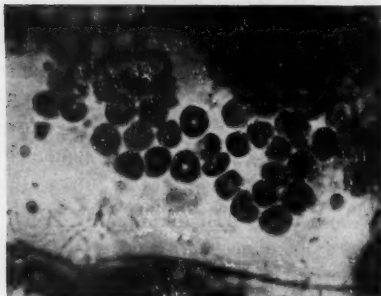


Abb. 8. *Helodea canadensis*. Nach 6tägiger Kultur im Phosphonium-Präparat M 2 (1:2,000,000 in Leitungswasser). Die Näpfchen sind in der Seitenansicht und in der Aufsicht gut zu erkennen.

miteinander, so kann man einmal feststellen, daß der Pyrenteil nicht der entscheidende Faktor bei der Bildung der anormalen Chloroplasten sein kann, da auch M 1 und M 2 (ohne Pyrenkomponente) dieselbe Wirkung zeigten. Zum anderen kann aber auch das quartäre Phosphonium allein nicht ausschlaggebend sein, da nicht alle Phosphoniumverbindungen (M 3, M 4 und M 5) Näpfchenbildung verursachen. Um eine endgültige Aussage darüber machen zu können, welches der wirksame Teil dieser Verbindungen ist, müßten noch weitere, ähnliche Stoffe zu Vergleichen herangezogen werden.

Auf Grund der Untersuchungen mit den vorliegenden Präparaten hat es den Anschein, als ob alle diejenigen benutzten quartären Phosphoniumverbindungen, die mit ringförmigen, lipophilen Endgruppen abschließen, näpfchenförmige Chloroplasten hervorrufen.

#### IV. Besprechung der Ergebnisse

##### 1. Streifung der Chloroplasten

Die Streifenbildung bei Chloroplasten wird in einer Reihe von Arbeiten beschrieben. Als erster vermerkt wohl Rosanoff (nach Hofmeister 1867) eine Streifenbildung bei den Chromatophoren von *Bryopsis*. Hofmeister (1867) versucht auf Grund dieser und eigener Beobachtungen Rückschlüsse auf die feinere Struktur der Chloroplasten zu ziehen. Klebs (1883) konnte durch Druck bei *Euglena deses* eine reversible Streifung der Chromatophoren willkürlich hervorrufen. Schmitz (1884) beobachtete bei der Behandlung der Algen mit Pikrinsäure, daß die Strukturen der Chromatophoren sich deutlicher zeigten oder überhaupt erst in Erscheinung traten. Er glaubte daher, daß den Chromatophoren ganz allgemein eine feine Netzstruktur, bestehend aus gefärbten Fibrillen, zukommt. Schimper (1885) spricht von Gestaltsveränderungen der Grana, die dadurch entstanden, daß

die Grana anfänglich deutlicher würden und sich dann in die Länge strecken. „Manchmal tritt auch“, so schreibt er weiter, „das von A. Meyer beschriebene Homogenwerden der Plastiden auf; dieselben werden ganz gleichmäßig grün gefärbt. Worin alle diese eigenartigen Veränderungen beruhen, muß fernerer Forschungen überlassen bleiben.“ Haberlandt (1888) vergleicht die Streifung bei *Selaginella* mit der bei *Bryopsis*. Er konnte bei Wasserentzug sehr schön eine Streifung der quellenden Chloroplasten beobachten. Besonders zum Rande hin tritt nach seinen Angaben verschiedentlich eine krummradiale Streifung auf. Doutreligne (1935) hält die reversiblen Runzelbildungen bei Chloroplasten von *Cabomba* für Oberflächenstrukturen. Heitz (1936) versucht die Streifung anormaler Chloroplasten durch ein Umkippen der scheibchenförmigen Grana zu erklären. Gerade die Streifung der Chloroplasten veranlaßte Heitz, wie er selbst schreibt, zu der Annahme, daß die Grana nicht im Sinne der alten Autoren aus kugelförmigen Gebilden, sondern aus Scheibchen bestehen. Da aber in der Seitenansicht streifiger Plastiden keine scheibchenförmigen Grana festgestellt werden konnten, nimmt Heitz an, daß auch durch Entstehung bälkchenförmiger Gebilde die Streifung erklärt werden könne. Weber (1936) hegt ebenfalls einigen Zweifel an der Deutung von Heitz, daß die Streifung durch ein Umkippen der Grana hervorgerufen wird. Die Streifen seien vielmehr Unebenheiten, Falten oder Runzelbildungen der Chloroplastenoberfläche. Auch die schraubige Stellung der Streifen, die von oben gesehen wie eine zugezogene Irisblende aussehen, sei auffallend. Weber konnte bei den streifigen Plastiden, und zwar gerade in diesen Streifen, eine deutliche Doppelbrechung beobachten. Küster (1937) glaubt, daß es sich bei der Streifung um eine Entquellung und Fältelung der peripheren Stromaschicht handelt. Lärz (1942) konnte bei seinen Versuchen mit Alkaloiden häufig ein Streifigwerden des Plastidenstromas beobachten. „Diese Aufblätterung ist“, so gibt er an, „sicher durch die submikroskopische Struktur der Plastiden bedingt.“

Betrachtet man die sich oft widersprechenden Angaben, so besteht durchaus die Möglichkeit, daß unter dem Begriff Streifenbildung verschiedene Erscheinungsformen zusammengefaßt sein können. So können einmal durch die Entquellung der Plastiden Runzeln oder Unebenheiten der Plastidenoberfläche entstehen und so eine Streifung hervorrufen. Schwer verständlich bleibt dabei nur die immer wieder erwähnte krummradiale Streifung, sofern man nicht annimmt, daß bei der Entquellung den Chloroplastenoberflächen durch innere, vorgebildete Strukturen eine bestimmte, immer wiederkehrende Form aufgezwungen wird. In vielen Fällen, vielleicht in den meisten, dürfte die Streifung aber wohl durch den in den letzten Jahren mit Sicherheit festgestellten lamellaren Aufbau der Chloroplasten bedingt sein. Es wäre daher vielleicht günstiger, von einer Lamellierung statt von einer Streifung der Chloroplasten zu sprechen.

Bei den Versuchen mit Rhodamin B, Methylgrün und Kristallviolett war jedenfalls klar zu erkennen, daß die Streifenbildung nicht auf eine Fälte-

lung der Chloroplastenoberfläche zurückzuführen war. Es ließen sich vielmehr deutlich Lamellen beobachten, die durch den ganzen Chloroplasten hindurchgingen (Abb. 3). Grana waren dabei nicht mehr sichtbar. In der Aufsicht erhielten die Chloroplasten ein diffus grünes Aussehen. In der Seitenansicht trat in den meisten Fällen eine leichte Quellung auf. Bei einigen wenigen Chloroplasten, die in der Frontalansicht sichtbar wurden, zeigten sich ähnliche Bilder, wie sie Rosanoff (nach Hofmeister 1867) zuerst und später verschiedene Autoren bei *Bryopsis* beobachtet haben. Die Streifen verliefen hier radiär von einem Punkte aus und gaben so das Bild einer geschlossenen Irisblende (Abb. 1 u. 2). Ob es sich bei *Bryopsis* um ähnliche Bilder handelt, müßten Untersuchungen zeigen.

Da die Lamellierung bei den Chloroplasten von *Helodea canadensis* und *Helodea densa* immer in der Seitenansicht parallel zur Oberfläche verlief und da vereinzelt eine irisblendenartige Struktur auftrat, läßt sich die Vermutung aussprechen, daß hier an den Enden der Chloroplasten besondere Punkte vorliegen, in denen sich die Lipoidlamellen vereinigen.

Die starke Lamellierung der Chloroplasten kommt offensichtlich dadurch zustande, daß die submikroskopisch dimensionierten Lamellen (Frey-Wyssling 1938a, Menke 1940a u. b, Strugger 1947a) zu mehreren miteinander verschmelzen und dadurch in den Auflösungsbereich des Lichtmikroskopes gelangen. So konnte des öfteren die Beobachtung gemacht werden, daß einzelne dickere Lamellen sich in zwei oder mehrere feinere aufzweigten. Fluoreszenzoptische Untersuchungen ergaben, daß das Chlorophyll nur in diesen dunkel erscheinenden Lamellen, den Lipoidlamellen, vorhanden war, nicht dagegen in den dazwischenliegenden Eiweißlamellen. Eine besondere Verteilung der Chlorophyllfluoreszenz innerhalb der Lipoidlamellen war nicht zu beobachten. Das Chlorophyll scheint sich demnach bei der Lamellenbildung flächenhaft in diesen auszudehnen. Dadurch würde sich auch das homogene, wolkenartige Aussehen der Chloroplasten in der Aufsicht erklären lassen.

Wodurch die krummradiale Streifung entstand, war nicht klar ersichtlich. Es kann aber vermutet werden, daß durch eine unterschiedliche Quellung und Verschmelzung der Lipoid- und Eiweißlamellen diese Krümmung hervorgerufen wird.

Stärkekörner, die vorhanden waren, zeigten sich immer in den ungefärbten Proteidschichten, nie in den Lipoidlamellen. Diese Tatsache deckt sich mit dem Befund von Strugger (1947a), der im Phasenkontrastmikroskop die autochthone Stärke in den Proteidschichten vorfinden konnte, wenn diese mit KCNS zur Aufquellung veranlaßt wurden.

## 2. Näpfchenbildung der Chloroplasten

Untersuchungen über das Vorkommen und die Entstehung von näpfchenförmigen Chloroplasten liegen in der Literatur kaum vor. Küster (1937) macht auf näpfchenförmige Deformationen aufmerksam, die er bei



*Mesembrianthemum* und bei *Vallisneria* beobachtet hat. Er läßt dabei die Frage offen, ob es sich um Quellungen handelt, bei denen sich die eine Fläche der Plastiden stärker ausdehnt als die andere, oder ob die Mitte der Scheiben stärker quillt als die Randpartie. Für wahrscheinlich hält er den zweiten Entstehungsmodus.

Nach den Untersuchungen mit den quartären Phosphonium-Verbindungen scheinen die Näpfchenformen aber nicht durch eine bevorzugte Quellung der Plastidenmitte hervorgerufen zu werden. Bei einer stärkeren Quellung der Scheibenmitte, die ja aus der Struktur der Chloroplasten verständlich wäre, würde es höchstens zu einer Abrundung der Chloroplasten in der Seitenansicht, nicht aber zu einer Krümmung kommen. Wie nun diese Näpfchenformen sich bilden, ist schwer zu sagen. Es liegt die Vermutung nahe, daß zwischen der Ober- und Unterseite der Chloroplasten ein morphologischer Unterschied vorhanden ist, der sich darin äußert, daß die Eiweißlamellen zur Oberfläche der Plastiden hin dicker werden, so daß dadurch die Oberseite der Plastiden stärker quellen kann als die Unterseite. Für diese Vermutung würde einmal sprechen, daß die Streifen oft zur Konkavseite am dichtesten lagen, während sie zur Konvexseite weitere Abstände zeigten. Küster (1937) konnte fernerhin beobachten, daß die Mehrzahl der näpfchenförmigen Chloroplasten ihre konvexe Seite der Zellwand zuwandten. Diese Feststellung konnte in den vorliegenden Untersuchungen bestätigt werden; der weitaus größte Teil der Chloroplasten wandte seine konvexe Seite dem Licht zu und seine konkave Seite vom Licht ab. Diese Beobachtungen dürften dafür sprechen, daß ein morphologischer Unterschied zwischen der Ober- und der Unterseite der Chloroplasten vorhanden ist.

### C. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Da sich die Ansichten über den Aufbau der Plastiden in den letzten Jahren weitgehend geändert haben, wurde die intravitale Streifen- und Näpfchenbildung bei Chloroplasten erneut einer näheren Analyse unterworfen.

2. Durch die Kultur von *Helodea canadensis* und *Helodea densa* in Rhodamin-B-Lösungen (1:1.000.000 in Leitungswasser) konnte eine Lamellierung der Chloroplasten experimentell zuverlässig hervorgerufen werden. Die Streifenbildung wurde nicht, wie Versuche mit gefiltertem Licht zeigten, durch einen photodynamischen Effekt verursacht. Das Chlorophyll ließ sich fluoreszenzoptisch nur in den dunkleren Streifen nachweisen. Eine Granastuktur war nicht mehr zu erkennen.

3. Dieselben Erscheinungen wie Rhodamin B riefen auch Methylgrün (1:100.000) und Kristallviolett (1:1.000.000) hervor.

4. In den Anfangsstadien war die Streifenbildung reversibel, sofern die Sprosse in reines Leitungswasser (verdunkelt) übertragen wurden; in fortgeschrittenen Stadien wurde die Lamellierung irreversibel.

5. Die Streifung der Chloroplasten in Rhodamin B, Methylgrün und

Kristallviolett war nicht auf eine Fältelung der Chloroplastenoberfläche zurückzuführen, sondern wird wahrscheinlich durch eine Vergrößerung des submikroskopisch dimensionierten lamellaren Aufbaus der Chloroplasten, durch eine Verschmelzung der Lamellen, hervorgerufen.

6. Es wird angenommen, daß die Lamellen sich in besonderen Punkten (Frontalseiten nach Küster 1937) vereinigen, weil einmal die Lamellen immer parallel zur Oberfläche verliefen und weil zum anderen vereinzelt eine irisblendenartige Struktur sichtbar wurde.

7. Da in Methylgrün streifig gewordene Chloroplasten von *Helodea canadensis* zur Vakuolenbildung veranlaßt werden können, sofern sie in Nikotinlösungen belichtet werden, darf man mit ziemlicher Sicherheit annehmen, daß selbst Chloroplasten, die schon eine weitgehende Strukturveränderung zeigen, noch assimilationstüchtig sind. Eine quantitative Aussage ist aber nicht möglich.

8. Die Pyrenderivate 949, 980, 985 A und die quartären Phosphoniumverbindungen M 1 und M 2 rufen in schwachen Konzentrationen (1 : 2.000.000 in Leitungswasser) bei den Chloroplasten von *Helodea canadensis* und *Helodea densa* sowohl im Hellen wie im Dunkeln eine intravitale, irreversible Näpfchenbildung hervor. Die Näpfchen entstehen vermutlich durch eine unterschiedliche Quellung der Chloroplasten, die sich darin äußert, daß die eine Seite sich stärker ausdehnt als die gegenüberliegende Seite.

#### Literatur

- Doutreligne, J., 1935: Note sur la structure des chloroplastes. Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam Proc. 38, 886.
- Drawert, H., 1939: Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. I. Versuche mit Rhodaminen. *Planta* 29, 376.
- 1940: Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. II. Die Aufnahme basischer Farbstoffe und das Permeabilitätsproblem. *Flora* 134, 139.
- Frey-Wyssling, A., 1938 a: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. *Protoplasma-Monographien* 15, Berlin.
- 1938 b: Der Aufbau der Chlorophyllkörner (Sammelreferat). *Protoplasma* 29, 279.
- Geitler, L., 1937: Über den Granabbau der Plastiden. *Planta* 26, 463.
- Gessner, F., 1941: Die Assimilation vital gefärbter Chloroplasten. *Planta* 32, 1.
- Haberlandt, G., 1888: Die Chlorophyllkörner der Selaginellen. *Flora* 71, 291.
- Hanssen, E., 1947: Untersuchungen über die Einwirkung von Alkaloiden und einigen Anaesthetica auf die Pflanzenzelle. Diss. Techn. Hochschule Hannover 1947.
- Heitz, E., 1932: Die Herkunft der Chromocentren. *Planta* 18, 616.
- 1936 a: Gerichtete Chlorophyllscheiben als strukturelle Assimilationseinheiten der Chloroplasten. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 54, 362.
- 1936 b: Untersuchungen über den Bau der Plastiden. I. Die gerichteten Chlorophyllscheiben der Chloroplasten. *Planta* 26, 134.
- Hofmeister, W., 1867: Die Lehre von der Pflanzenzelle. Leipzig 1867.
- Hubert, B., 1935: The physical state of chlorophyll in the living plastid. *Rec. trav. bot. néerland.* 32, 323.
- Kausche, G. A. und Ruska, H., 1940: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Chloroplasten. *Naturwiss.* 28, 303.

- Klebs, G., 1883: Über die Organisation einiger Flagellatengruppen und ihre Beziehungen zu Algen und Infusorien. Unters. Bot. Inst. Tübingen 1, 233.
- Kölbel, H., 1948: Quantitative Untersuchungen über den Speicherungsmechanismus von Rhodamin B, Eosin und Neutralrot in Hefezellen. Zeitschr. Naturforsch. 3 b, 442.
- Küster, E., 1937: Pathologie der Plastiden. Protoplasma-Monographien 13, Teil II.
- Lärz, H., 1942: Beiträge zur Pathologie der Chloroplasten. Flora, Neue Folge 35, 519.
- Menke, W., 1940 a: Die Lamellarstruktur der Chloroplasten im ultravioletten Licht. Naturwiss. 28, 158.
- 1940 b: Untersuchungen über den Feinbau des Protoplasmas mit dem Universal-Elektronenmikroskop. Protoplasma 35, 113.
- und Koydl, E., 1939: Direkter Nachweis des lamellaren Feinbaus der Chloroplasten. Naturwiss. 27, 29.
- Pirson, A., und Alberts, F., 1940: Über die Assimilation von *Helodea*-Blättchen nach Vitalfärbung mit Rhodamin B. Protoplasma 35, 151.
- Rabinowitch, E. I., 1945: Photosynthesis and Related Processes I. New York.
- Roberts, E. A., 1942: zitiert nach Rabinowitch. 1945.
- Schimper, A. F. W., 1885: Untersuchungen über die Chlorophyllkörner und die ihnen homologen Gebilde. Jahrb. wiss. Bot. 16, 1.
- Schmidt, H. H., 1950: Studien zur experimentellen Pathologie der Chloroplasten. I. Untersuchungen über die Vakuolenbildung der Chloroplasten durch Alkaloide und Anaesthetica. Protoplasma 40, 209.
- Schmitz, Fr., 1884: Beiträge zur Kenntnis der Chromatophoren. Jahrb. wiss. Bot. 15, 1.
- Strugger, S., 1937 a: Die Vitalfärbung der Chloroplasten von *Helodea* mit Rhodaminen. Flora 131, 113.
- 1937 b: Weitere Untersuchungen über die Vitalfärbung der Plastiden mit Rhodaminen. Flora 131, 324.
- 1941: Zellphysiologische Studien mit Fluoreszenzindikatoren. Flora 135, 111.
- 1947 a: Die Anwendung des Phasenkontrast-Verfahrens zum Studium der Pflanzenzelle. Zeitschr. Naturforsch. 2 b, 146.
- 1947 b: Zellphysiologie und Protoplasmatik. Naturforschung und Medizin in Deutschland 1939 bis 1946, 52, Biologie, Teil 1, 1.
- 1949: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. 2. Auflage. Berlin.
- 1950: Über den Bau der Proplastiden und der Chloroplasten (vorläufige Mitteilung). Die Naturwiss. 37, 166.
- Weber, F., 1936: Doppelbrechung und Grana der Chloroplasten. Mikrochemie, Molisch-Festschr. 447.
- 1937: Assimilationstätigkeit und Doppelbrechung der Chloroplasten. Protoplasma 27, 460.
- Weier, E., 1936 a: The structure of the chloroplast of *Pellionia pulchra*. Cytologia 7, 504.
- 1936 b: The structure of the non-starch-containing beet chloroplast. American Journ. Bot. 23, 645.
- Wieler, A., 1936: Über den Bau der Chlorophyllkörner. Protoplasma 26, 295.

# Die Stachelkugeln von *Nitella*

Von

**Otto Härtel**

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz)

Mit 4 Textabbildungen

(Eingelangt am 26. April 1951)

Seit ihrer Entdeckung durch Corti (1774) waren die merkwürdigen, einer Reihe von *Nitella*-Arten eigentümlichen (Votava 1914) Wimper- oder Stachelkugeln wiederholt Gegenstand des Interesses und der Untersuchung. Die ältere, vor allem auf die Beschreibung sich beschränkende Literatur, unter der vor allem die Beobachtungen von Goeppert und Cohn (1849) hervorzuheben sind, wurde von Overton (1890) referiert. Overton stellte als erster planmäßig mikrochemische Reaktionen an und erklärte die Stachelkugeln als Eiweiß-Gerbstoff-Verbindungen. Diese Ansicht wurde von Votava angezweifelt, ihre Nachuntersuchung ergab keine Anhaltspunkte für das Vorhandensein von Gerbstoffen, wie auch schon die Gerbstoffreaktionen Overtons recht wenig eindeutig waren. Trotzdem neigt Küster (1935) eher der Overton'schen Ansicht zu, während Guilliermond-Mangenot-Plantefol (1935) die Stachelkugeln unter die *inclusions proteiques* einreihen.

Besteht demnach hinsichtlich des stofflichen Charakters der Stachelkugeln noch keine endgültige Übereinstimmung der Meinungen, so ist ihre Bildungsweise gleichfalls noch ungeklärt. Wohl stimmen Overton und Votava darin überein, daß die neben den Stachelkugeln stets vorkommenden wasserhellen und farblosen Blasen mit jenen identisch und als deren Vorstufen anzusehen seien. Über die Art der Umbildung jedoch liegen weder genauere Beschreibungen noch Abbildungen vor. Offen ist ferner auch die Frage, wie die Blaskugeln selbst entstehen und welcher Kategorie von Zellinhaltskörpern sie angehören. Hierüber sollen nachstehende Beobachtungen Klarheit zu schaffen suchen.

## 1. Über die Identität der Stachel- und Blaskugeln und deren Entstehung

Sehen wir hinsichtlich der zuletzt angeschnittenen Frage die Literatur nach Hinweisen durch, so ergeben sich zwischen den einzelnen Beobachtungen nur schwer zu vereinende Widersprüche. Die Stachelkugeln stellen bekanntlich runde bis ovale Gebilde von einem Durchmesser bis etwa 22–24  $\mu$

dar. Die Stacheln selbst liegen wie ein Wimperkranz um die Kugel, ihre Länge beträgt je nach Größe resp. offenbar Alter der Kugel etwa  $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{20}$  des Kugeldurchmessers. Goepfert und Cohn beobachteten einen Hof um jede einzelne Stachelkugel, als ob sie „von einer in Wasser schwerlöslichen Flüssigkeitssphäre umgeben“ wären (zit. n. Overton S. 3). Eine eigene Membran scheint nach diesen Autoren den Stachelkugeln zu fehlen. Votava hingegen gibt keinerlei derartige Beobachtungen an. An Hand von Präparaten, die wir nach Fixierung der Internodien von *Nitella opaca* (aus der Umgebung von Graz) mittels Pikrinsäure, Sublimat-Alkohol und vor allem mit Flemmingscher Mischung erhalten haben, können wir die Angaben der älteren Autoren bestätigen. Den Stachelkugeln liegt vielfach eine feingranulierte Schicht an, die von der Umgebung durch eine feine Kontur abgesetzt ist. Besonders deutlich hebt sich diese Kontur im Phasenkontrastmikroskop als feine dunkle Linie von bisweilen körniger Beschaffenheit ab. Gleichzeitig tritt auch die Granulation der hofartigen Hülle der Stachelkugel deutlicher hervor. Es könnte sich demnach um lipoidartige Stoffe handeln, zumal auch Sudan III in granulierter Form gespeichert werden kann; Gerbstoffe konnten dagegen nicht nachgewiesen werden. Unregelmäßige Konturen und stark wechselnde Dicke der granulierten Hülle dürften wohl als Fixierungsartefakt zu deuten bzw. auf Deformationen beim Herausquetschen des Zellinhaltes zurückzuführen sein. In situ liegt die granulierte Substanz in der Regel mehr konzentrisch um die Kugeln. Es wäre zwar denkbar, daß unter Annahme von nackten, frei im Plasma schwimmenden Stachelkugeln plasmatische Substanz fest zwischen den Stacheln haften bliebe und so einen Hof vortäuschen könnte. Solches ist aber wohl nur bei Fixierung des austretenden Zellsaftes wahrscheinlich; bei Fixierung der intakten Internodien ist, namentlich angesichts des gleichartigen Auftretens solcher Höfe nach Anwendung verschiedener Fixiermittel, vor allem des die Plasmastrukturen gut erhaltenden Flemmingschen Gemisches, ihr derartiges Zustandekommen kaum gut vorstellbar.

Man wird nicht fehlgehen, diesen wahrscheinlich plasmatischen Hof mit der Entstehung und Bildung der Stachelkugeln einerseits, mit den bereits von Overton und von Votava übereinstimmend beschriebenen Blasen, die sich bei Berührung der Stachelkugeln mit Wasser von diesen abheben, andererseits, in Zusammenhang zu bringen. Es fällt auf, daß die Blasen ausnahmslos eine völlig gleichmäßige dünne Kontur aufweisen und es ist schwer denkbar, daß sich eine derartig glatte Membran von der stacheligen Oberfläche der Kugeln abheben könnte; es müßten doch die Eindrücke der Unebenheiten oder zumindest unregelmäßige Verdickungen der Kontur zu beobachten sein. Diese Blasen heben sich in Wasser langsam (Overton), in Jodjodkali und Eisendchlorid (Votava) rasch ab. Ein besonders rasches Auftreten solcher Blasen konnten wir fernerhin in sauren Pufferlösungen unterhalb eines  $p_H$  von 4–5, ja sogar in  $n/10$  HCL wahrnehmen, ferner in normalen KJ- und  $CaCl_2$ -Lösungen; am größten werden sie, wenn man den Zellinhalt, ohne ihn mit Wasser in Berührung zu bringen, austreten läßt ( $p_H$  des Zellsaftes etwa 4,5); ihr Durchmesser kann so das 5–6fache desjenigen der Stachelkugel erreichen. Zusatz von Ammoniumoxalat hemmt das Abspringen der



Blase weitgehend, auch bei gleichzeitiger Anwesenheit von  $\text{FeCl}_3$ , wird ihre Zahl deutlich vermindert. Es scheint demnach die Anwesenheit von  $\text{Ca}^{++}$ -Ionen zu ihrer Ausbildung nötig zu sein, was an eine surface precipitation reaction (Heilbrunn) denken läßt. Voraussetzung hierfür ist aber, daß eine distinkte Plasmahülle um die Stachelkugel liegt, an deren Oberfläche sich eine Niederschlagsmembran bei Berührung mit einer andersgearteten Flüssigkeit bilden kann. Wenn sich bei Anwesenheit selbst größerer Mengen von Ammoniumoxalat ( $n/10$ -Lösung) noch Blasen ausbilden können, so spricht dies keineswegs gegen der Deutung der Blase als Niederschlagsmembran; in derartigen Fällen ist die Stachelkugel beim Ausfließen des Zellinhaltes mit dem Zellsaft in Berührung gekommen, ehe das Salz einwirken und die Ausbildung der Blase hindern konnte.

Die Blasenwand hebt sich wiederum deutlich im Phasenkontrastmikroskop ab; auch der Blaseninhalt ist etwas dunkler, die Umgebung ist oft ganz leicht granuliert (Abb. 4a), jedenfalls in bedeutend schwächerem Ausmaß, als dies bei den plasmatischen Hüllen der Stachelkugeln beobachtet wurde. An der Identität bzw. der Homologie der beiden Gebilde dürfte demnach wohl kaum ein Zweifel bestehen. Ob die oben beschriebene Kontur der plasmatischen Hülle der Stachelkugeln auch bereits eine Niederschlagsmembran darstellt oder aber schon ursprünglich in der lebenden Zelle vorhanden ist, beim Ausfließen des Zellinhaltes jedoch zerstört und so ihre Neubildung unter gleichzeitiger Quellung des Blaseninhaltes veranlaßt wird, kann auf Grund dieser Beobachtungen nicht entschieden werden. Bei Beobachtung *intra vitam* sind die Einzelheiten durch die Chloroplastenschicht hindurch nicht mit der nötigen Deutlichkeit zu erkennen; auch die Phasenkontrastmikroskopie muß in solchen Fällen naturgemäß versagen. Zusatz von Plasmolytikum zu den abgesprungenen Blasen bewirkt nur wenig sichtbare Änderungen der Blasengröße; genaue Messungen sind infolge der durch die Diffusionsströme verursachten rollenden Bewegung unmöglich.

Aus der offenkundigen Ähnlichkeit der Kontur und des Inhaltes dieser Blasen mit den wasserhellen, stets neben den Stachelkugeln vorkommenden Blaskugeln schließen Overton und Votava übereinstimmend, daß es sich bei letzteren um Vorstadien der Stachelkugeln handeln dürfte. Die von beiden Autoren beobachtete Ähnlichkeit auch des mikrochemischen Verhaltens schien eine weitere Bestätigung für diese Ansicht zu liefern. Tatsächlich zeigen die abgehobenen Blasen und die Wandungen der Blaskugeln im Phasenkontrastmikroskop ungefähr den gleichen Kontrast; bei letzteren ist hierbei jedoch oftmals eine Zeichnung der Oberfläche in Form von locker stehenden Punkten (die Overton offenbar auch schon gesehen und mit Poren verglichen hat) erkennbar. Die Oberflächenzeichnung wird auch durch Sudan III deutlicher, wobei die ganze Kugel rötlich konturiert, also lipidhaltig erscheint. Daß dies an den abgehobenen Blasen fertiger Stachelkugeln nicht mehr zu beobachten ist, mag vielleicht in ihrer zarten Beschaffenheit liegen, soll daher nicht als Argument gegen die Identität gewertet werden. Dagegen ergeben sich bedeutende Schwierigkeiten in der Erklärung der Umbildung der wasserhellen Blaskugeln zu den Stachelkugeln. Daß „fast alle Übergänge“ (Overton, S. 8) zu finden sind, konnten wir nicht bestätigen.



Wohl sind, wie oben gesagt, manche Blasen mit punktförmigen Verdickungen (Abb. 1 g), die als Anfangsstadien von Stacheln angesehen werden könnten, versehen, als „nächstes Stadium“ finden sich jedoch nur wohl ausgebildete Stachelkugeln mit kompaktem oder dickwandigem Kugelkörper und dicht stehenden Stacheln, ohne daß es dazwischen irgendwelche Übergänge gäbe. Kleine Kugeln, die erwartungsgemäß eher Zwischenstufen zeigen sollten, wurden nur äußerst selten derart punktiert vorgefunden (Abb. 2 s), während andererseits häufig ganz kleine, bereits wohl ausgebildete Stachelkugeln, meist mit etwas ruppig abstehenden Stacheln, vorkommen. Denkt man sich die Stachelkugel durch Umwandlung der zarten Bläschenwand und zentrifugale Anlagerung neuer Stacheln entstanden, so kann die Wand der Blaskugel unmöglich mit der von der Stachelkugel abspringenden Blase identisch sein; für eine innerhalb der Blaskugel vor sich gehende Umwandlung plasmatischer Substanz in Stachelkugeln geben die Beobachtungen an ausgewachsenen Internodien keinerlei Anhaltspunkte.

Auf eine weitere Tatsache möge noch hingewiesen werden. Overton gibt an, daß mit dem zunehmenden Alter des Internodiums die Zahl der darin befindlichen Stachelkugeln zu- und die der Blaskugeln entsprechend abnehme und sieht darin einen weiteren Beweis für die Umwandlung der Blaskugeln in Stachelkugeln. Diese Beobachtung konnte bei einer Nachzählung im Phasenkontrastmikroskop, das auch die im Hellfeld kaum sichtbaren Blaskugeln deutlich erkennen läßt, nicht bestätigt werden. Wir zählten an ein- und demselben *Nitella*-Trieb 10 hintereinanderliegende Internodien durch und notierten die Zahl der Stachel- und der Blaskugeln. Nachstehende Tabelle gibt ihr prozentuales Verhältnis wieder.

Tab. 1. Prozentuales Verhältnis von Stachel- und Blaskugeln in verschieden alten Internodien.

	Blasen- Stachel- kugeln			Blasen- Stachel- kugeln	
Apikal: Internodium I	23	77	Internodium VI	64	36
II	45	55	VII	72	28
III	45	55	VIII	90	10
IV	50	50	IX	98	2
V	59	41	Basal: Internodium X	98	2

In den alten, ausgewachsenen Internodien überwiegen demnach die Blaskugeln bei weitem, während sich das Verhältnis gegen die Spitze im Gegensatz zu Overton zugunsten der Stachelkugeln verschiebt. Allerdings muß hinzugefügt werden, daß im lebenden jungen Internodium massenhaft Blaskugeln kreisen; diese gehen offenbar beim Austreten des Zellinhaltes zugrunde, sind demnach wesentlich hinfälliger und unbeständiger als die Blasen der älteren Internodien. An fixierten Präparaten finden sich auch im ausgequetschten Zellinhalt reichlich kleine Bläschen, eine beiläufige Schätzung (genaue Zählungen sind bei der Kleinheit und vielfachen Deformierung und Zerstörung der Gebilde unmöglich) ergibt wieder einen Prozentsatz von etwa 1–2% Stachelkugeln. Demnach nehmen die Blaskugeln mit dem Alter der Internodien an Stabilität wie an Zahl zu, was aber mit der Vorstellung einer

gleichzeitig vor sich gehenden Umwandlung in Stachelkugeln nur schwer vereinbar ist.

Wenn sich fernerhin Overton wie Votava die Stachelkugeln auf eine ähnliche Weise wie die Aleuronkörner entstanden denken, so ist mit dieser Aussage noch nicht allzuviel gewonnen. Wenngleich beide Autoren keine genaueren Angaben darüber machen, so ist doch anzunehmen, daß sie auf dem Boden der von Maschke, Gris, Pfeffer und anderen vertretenen Anschauung standen, wonach das Aleuron in den Vakuolen durch allmählichen Wasserentzug und in dessen Folge durch fraktionierte Ausfällung von Eiweißstoffen entstehe. Für diese Bildungsweise fehlt aber gerade bei *Nitella* jegliche Voraussetzung.

Um die Entstehung der Stachelkugeln verfolgen zu können, ist es nötig, die allerjüngsten Internodien bzw. Seitenachsen zu untersuchen. Zu diesem Zwecke wurden die Spitzen des *Nitella*-Thallus mit Flemmingscher Lösung fixiert und die terminalen  $\frac{1}{2}$ –1 mm langen Internodien vorsichtig aufge-

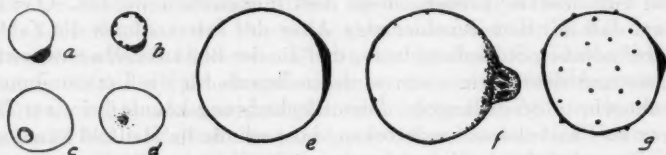


Abb. 1. Blasen- und Stachelkugeln aus jungen (a–d) und älteren Internodien (e–g).

schnitten. Im austretenden Zellinhalt finden sich massenhaft kleine Blasen von etwa 8–10  $\mu$  Durchmesser, die fast durchwegs eine grünliche scheibenförmige Verdickung von etwa 2–3  $\mu$  Durchmesser, also etwa  $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{5}$  des Blasendurchmessers aufweisen (Abb. 1 a–d), ähnlich wie dies an den Blasen- und Stachelkugeln älterer Internodien von Overton und Votava beschrieben und auch von uns beobachtet wurde (Abb. 1 e, g). Neben solchen streng kreisrunden Blasen, die sich von denen aus älteren Internodien nur durch ihre Größe unterscheiden, findet man bei genauerem Suchen auch noch andere Gebilde, kleinere Bläschen von etwa 3–5  $\mu$  Durchmesser, die von einer bisweilen leicht granulierten Kontur begrenzt sind und einer gleichfalls granulierten, offenbar plasmatischen, Masse anliegen oder von ihr mehr oder weniger umfaßt werden. In dieser Masse liegen ein oder mehrere grünlich erscheinende Körnchen von unter 1  $\mu$  Durchmesser; diese Körnchen heben sich im Phasenkontrastmikroskop deutlich dunkel ab (Abb. 2 a–c). „Körnige, unregelmäßige, häufig sehr große protoplasmaähnliche Massen“ beschreibt bereits Overton (S. 7), glaubt aber, daß sie mit den Blasen in keinem Zusammenhang stünden, da sie wandungslos seien. Wie man sich jedoch überzeugen kann (Abb. 2 a–c nach dem Phasenkontrastbild gezeichnet), sind diese Plasmaklumpchen zwar unregelmäßig geformt, aber doch mehrweniger deutlich konturiert; außerdem liegen ihnen häufig Bläschen an, womit ein Übergang in das Blasenstadium sehr wohl möglich erscheint. Nicht nur in optischer Hinsicht, auch in ihrem Verhalten zu Sudan III gleicht diese plasmatische Substanz ganz der die Stachelkugeln umgebenden Hülle. Man hat

den Eindruck, daß es sich um rasch durchlaufene Stadien einer Entwicklungsreihe handelt. Dabei scheint sich zunächst die plasmatische Substanz an einer Stelle der Blase zu konzentrieren (Abb. 2 b, c), von der in weiterer Folge ein zentripetales Wachstum ausgeht. Dabei entsteht zunächst ein halbkugeliges Gebilde, das an einem Stielchen der Blasenwand anliegt, wie dies an günstig liegenden Blasen deutlich zu erkennen ist (Abb. 2 f, g). Die Halbkugel trägt an ihrer Vorderseite bereits locker stehende Stacheln, die zunächst gleichsam nach vorne frisiert erscheinen (Abb. 2 f—k). Manchmal ist das Stielchen sehr plump, die plasmatische Substanz sitzt dann als grünliches Käppchen auf (Abb. 2 h—k). Die junge Stachelkugel vergrößert sich offenbar

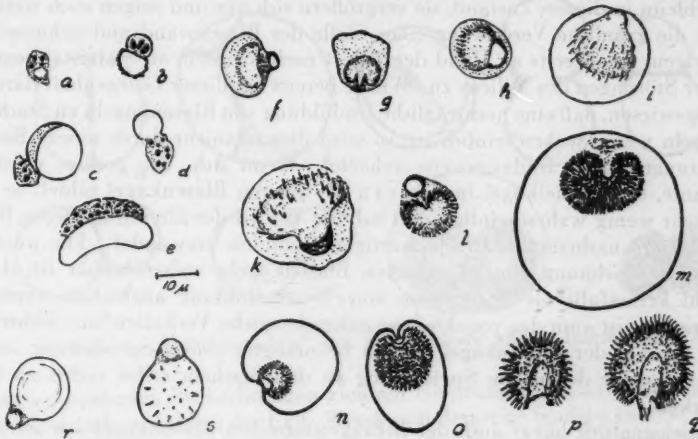


Abb. 2. Die Entstehung der Stachelkugeln aus den blasenförmigen Vorstadien. Erklärung siehe Text.

rasch, wie aus der relativ geringen Zahl solcher Zwischenstadien zu schließen ist. Auch wesentlich größeren Stachelkugeln kann man bisweilen ein ähnliches grünliches Käppchen aufsitzen sehen, das jedenfalls mit der oben beschriebenen plasmatischen Substanz der Blasenku gel identisch ist. Derartige jugendliche Stadien zeigen bei Berührung mit Wasser oder nach Fixierung mit säurehaltigen Fixierungsmitteln (Flemming) bereits das auf S. 527 geschilderte Abspringen der Blase. Zunächst liegt fast regelmäßig eine (oft etwas verjüngte) Seite der Stachelkugel der Blasenwandung an, sie besitzt an dieser Stelle eine porenartige Öffnung oder an älteren Kugeln nur mehr eine Eindellung, von deren Rand die Blase ihren Ausgang nimmt (Abb. 2 m—o). Solche Poren oder Eindellungen hat schon Votava erwähnt und dazu bemerkt, daß sich in der Mitte derartiger Eindellungen bisweilen eine kleine Erhebung befindet; wir werden kaum fehlgehen, wenn wir diese Erhebung mit dem Rest des Stielchens, mit dem die junge Stachelkugel mit der Blasenwand in Verbindung steht, identifizieren (Abb. 2 q). Es dürfte ferner kaum zweifelhaft sein, daß von diesem Stielchen die Neubildung und Anlagerung von Stachelkugel-Substanz ausgeht; auf diese Weise werden auch ovale

Stachel„kugeln“ innerhalb der stets streng kreisrunden Blasen ohneweiteres verständlich. Die Pore führt in der Regel in einen Hohlraum im Innern der Stachelkugel, der besonders an fixiertem oder auch nur auf dem Objektträger aufgetrockneten Material deutlich hervortritt. Es ist durchaus möglich, daß die Konturen solcher Hohlräume, die an nativen Kugeln durch die Stachelschicht hindurch, wenn überhaupt, dann nur undeutlich wahrnehmbar sind, Overton zur Annahme eines von ebenen Flächen begrenzten Körpers im Innern der Stachelkugel, also eines kristallartigen Baues, veranlaßt haben.

Blasenkugeln, die im Begriff sind, Stachelkugeln auszubilden sind gegenüber unveränderten stark in der Minderzahl. Die überwiegende Mehrzahl verbleibt in diesem Zustand, sie vergrößern sich nur und zeigen auch weiterhin die grünliche Verdickung einer Stelle der Blasenwand und nehmen im übrigen, wie bereits an Hand der Tab. 1 nachgewiesen, an Stabilität gegenüber Störungen des Milieus zu. Wurde bereits bei dieser Gelegenheit darauf hingewiesen, daß eine nachträgliche Umbildung von Blasenkugeln zu Stachelkugeln wenig wahrscheinlich ist, so wird dies nunmehr durch unsere Beobachtungen ihrer Bildungsweise erhärtet. Wenn sich, wie gezeigt werden konnte, die Stachelkugel im Innern der jungen Blasenkugel bildet, so ist es sehr wenig wahrscheinlich, daß sich die Wand der älteren größeren Blasenkugeln nachträglich zu gleichartigen Gebilden umwandelt. Die punktförmige Zeichnung, die an manchen Blasenkugeln wahrnehmbar ist, darf wohl keinesfalls als Vorstadium einer Stachelbildung angesehen werden. Darauf weist auch das verschiedene mikrochemische Verhalten hin; während die Punkte der Blasenkugel Stellen bevorzugter Sudan-Speicherung sind, ist von einer derartigen Speicherung an den Stacheln selbst nichts zu bemerken.

Gelegentlich hängt auch der herangewachsenen Blasenkugel aus älteren Internodien eine wandständige Verdickung beträchtlichen Ausmaßes in Form eines sackartigen Gebildes an, zumindest bei Berührung mit Wasser (Abb. 1 f); im Innern dieser Verdickung befinden sich ein oder mehrere Körnchen von grünlicher Farbe, sie sind offenkundig von der gleichen Art, wie sie sich auch in den jüngsten Stadien vorfinden (Abb. 2 a—e). Wir glauben jedoch nicht, daß derartige Blasen mit den von Nägeli und Schwendener abgebildeten, in ihrer äußeren Form allerdings ganz ähnlichen, gequollenen Chlorophyllkörnern identisch sind. Dort wird das Säckchen mit einem dunklen Inhalt und darin befindlichen hellen (oder stärker lichtbrechenden) Körnchen dargestellt, während die in Rede stehenden Blasen eine nahezu hyaline farblose Ausbuchtung mit grünlichen Einschlüssen aufweisen; ferner zeigen die von uns beobachteten Blasen vielfach eine ähnliche punktierte Oberflächenzeichnung, wie sie auch die Blasen ohne solche Anhängsel besitzen (vgl. Abb. 1 g sowie 4 a). Wohl beobachteten auch wir Chlorophyllkörner mit anhängenden Blasen; Stadien, wie sie in Abb. 1 f oder 4 a dargestellt sind, als Entmischungsformen von Chloroplasten zu deuten würde jedoch den Unterschied und die Grenze zwischen Chloroplasten und Blasenkugeln weitgehend verwischen.

Für unsere Auffassung, daß die Blasenkugeln der älteren Internodien nicht mehr weiter entwicklungsfähige Gebilde darstellen, spricht auch eine andere Beobachtung. Hin und wieder fallen Stachelkugeln auf, die mehr oder

weniger innig miteinander verwachsen sind (Abb. 3 i). In einem Falle konnte sogar beobachtet werden, daß die beiden Hälften von einem gemeinsamen plasmatischen Stroma aus gebildet werden (Abb. 3 h). Es handelt sich demnach nicht um Teilungsstadien bereits fertiger Stachelkugeln, deren Fehlen Votava mit Recht betont, sondern um eine Bildungsanomalie, die offenbar auf eine unvollständige Teilung der protoplasmatischen Substanz der jungen Blaskugel, also auf ein frühes Entwicklungsstadium, zurückgeht. Wenn solche unvollständig verlaufene Teilungen in Form der Doppelkugeln gewissermaßen konserviert werden, so müßte sich ähnliches auch an den älteren Blaskugeln, die ja sowohl nach den älteren Autoren wie auch nach unseren

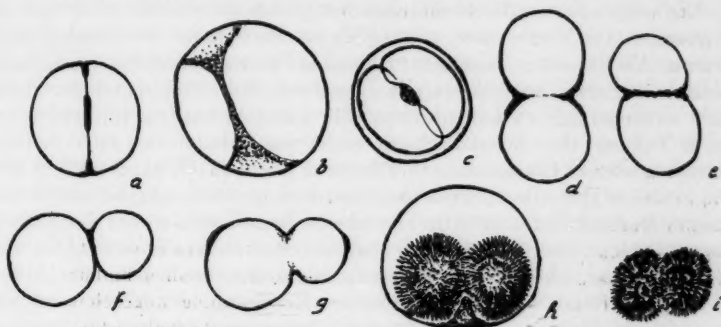


Abb. 3. „Teilungsstadien“ von Blaskugeln älterer Internodien.

oben dargelegten Beobachtungen gleichen Ursprungs sind, auffinden lassen. Dies ist auch tatsächlich der Fall. Wenn auch derartige Stadien äußerst selten auftreten, so lassen sich die beobachteten Figuren zu einer nahezu lückenlosen Reihe zusammenfügen. Danach scheint die Teilung tatsächlich vom plasmatischen „Stroma“ auszugehen. Es finden sich Stadien, in denen der grünlich schimmernde plasmatische Anteil als Ring bzw. als Großkreis um die Blase herumliegt (Abb. 3 a, b), ferner verschieden stark eingeschnürte Doppelkugeln, wobei es bis fast zur völligen Trennung der Kugeln kommt und die Blasen nur durch eine schmale plasmatische Brücke verbunden sind (Abb. 3 f, g).

Es ist jedoch nur schwer vorstellbar, wie es, selbst unter Vermittlung eines plasmatischen Anteiles, zu einer Teilung eines derartigen blasenförmigen Gebildes kommen soll. Wir neigen daher im Hinblick auf das ziemlich häufige Auftreten von Stachel-Doppelkugeln einerseits, auf die zunehmende Stabilität der Blaskugeln andererseits, eher der Ansicht zu, daß es sich bei den beschriebenen und abgebildeten Teilungsstadien um gleichfalls „konservierte“ Gebilde handelt, um Teilungsfiguren, die wohl in ganz kleinen Blasen, deren plasmatischer Anteil noch wesentlich höher ist (vgl. Abb. 2 a—d), angelegt wurden, auch bis zu einem bestimmten Stadium gediehen, dann aber aus einem unbekannten Grunde in ihrer Weiterentwicklung steckengeblieben sind; bei weiterer Vergrößerung und Stabilitätszunahme der Kugel sind dann diese Formen gewissermaßen konserviert worden. Für



diese Deutung spricht einmal das überaus seltene bzw. anscheinend schubartige Auftreten solcher Figuren, über dessen äußeren Anlaß noch keinerlei Aussage gemacht werden kann; zum anderen müßten die beschriebenen Teilungsfiguren, sofern man die relative Blasenvermehrung in den älteren Internodien (vgl. Tab. 1) auf derartige Teilungen zurückzuführen sucht, gerade in den in Streckung befindlichen Internodien mit größerer Häufigkeit anzutreffen sein, was aber keineswegs der Fall ist.

## 2. Der plastidäre Ursprung der Stachelkugeln

Die vorgetragenen Beobachtungen lassen sich unserer Meinung nach ungezwungen im Sinne einer plastidären Entstehung der Stachelkugeln deuten. Als Plastiden „bezeichnet man scharf umrissene zähflüssige Gebilde, die stets im Protoplasma liegen, sich niemals mit ihm mischen und ohne dieses nicht existenzfähig zu sein scheinen. Sie wachsen, und sie vermehren sich durch Teilung; ihre Substanz kann weder aus Protoplasma oder Zellkern entstehen noch zu Protoplasma oder Zellkern werden.“ (Küster 1935, S. 231.) Die in obiger Definition geforderten Bestimmungsstücke scheinen auf Grund unserer Beobachtungen erfüllt. Die scharfe Begrenzung ist bei den Blaskugeln evident, aber auch bei den jüngsten Stadien ist sie, wenigstens nach Fixierung bzw. im Phasenkontrastmikroskop, deutlich erkennbar (Abb. 2 a—d). Die oftmals unregelmäßige äußere Kontur spricht, selbst wenn man sie nicht als Fixierungsartefakt ansieht, keineswegs gegen ihre Plastidenatur, sind doch Plastiden mit unregelmäßiger Gestalt, ja sogar mit amöboider Lappung, z. B. bei den Diatomeen, Braun- und Rotalgen (Pfitzer 1871) bekannt. Die im Frühstadium der Blaskugel unregelmäßig geformte Gestalt des plasmatischen Anteils ist offenbar der Ausdruck einer geringen Oberflächenspannung; mit dem Alter der Blaskugel nimmt diese zu (gleichzeitig werden in der Blaskenwand Lipide nachweisbar), womit jedenfalls die zunehmende Stabilität und gleichzeitig die strenge Kugelform der Blasen zusammenhängt. Die Lage der Blasen- resp. Stachelkugeln im Plasma geht aus ihrem Verhalten bei der Plasmaströmung deutlich hervor. Sind auch distinkte Teilungsfiguren in den jüngsten plasmatischen Stadien der Blaskugeln nicht mit Sicherheit nachzuweisen, so geht ihre Vermehrung durch Teilung einerseits aus dem beobachteten Auftreten von Stachel-Doppelkugeln, andererseits aus der an älteren Blaskugeln auffindbaren, fast lückenlosen Folge höchstwahrscheinlich „konservierter“ Teilungsstadien (Abb. 3) hervor. Unvollständig bleibende Plastidenteilung ist ja seit langem bei *Chara*, *Selaginella*, in den Blütenhaaren von *Gaillardia lanceolata* u. a. m. (vgl. Küster) bekannt. Der Nachweis, daß sich das Stroma, die plasmatische Grundsubstanz, niemals aus dem Zytoplasma neu bildet, ist direkt allerdings schwer zu führen. Da aber das Stroma wesentlich lipoidreicher, selbst in den jüngsten beobachtbaren Stadien bereits deutlich begrenzt und offenkundig teilungsfähig ist, erscheint ein daneben bestehender zweiter Weg seiner Entstehung recht unwahrscheinlich.

Eine abspringende Hülle, wie sie sich um die Stachelkugeln oft bildet, findet sich auch an anderen Plastiden, es sei hier an die oft bauchig abge-



hobene Plastidenmembran der hantelförmigen Stärkekörner von *Euphorbia splendens* erinnert. Sie hebt sich im Phasenkontrastmikroskop mit dem gleichen Kontrast und der gleichen Schärfe ab wie die Blaskugeln bzw. die abgesprungenen Blasen der Stachelkugeln. An den Proteinkörnern von *Brosimum microcarpum* lassen sich nach Molisch vielfach die Reste der alten Proteinoplastenmembran erkennen, auch die Proteinoplasten von *Cecropia peltata* sind von einer Membran umgeben. Nach Meyer bilden sich die Stärkekörner im Innern blasenförmiger Plastiden; es liegt nahe, den kappen- bzw. sichelförmigen grünen Chromatophor an dem einen Pol des Stärkebildners mit den Verdickungen der *Nitella*-Blasen zu vergleichen, zumal da er sich bei halbzusammengesetzten Stärkekörnern z. B. von *Pellonia Daveauana* in ähnlicher Weise als Band oder granulierter Strang zwischen den Hälften des Stärkekorns hinzieht, wie wir es bei den „Teilungsstadien“ der Blaskugeln beobachten konnten (vgl. Abb. 3 b und Meyer, Tafel IV). Neuerdings bildet Vrtar (1949) kautschukbildende Plastiden aus dem Milchsafte von *Ficus carica* und *Ficus elastica* ab; sie stimmen nicht nur in ihrer Gestalt und der in der Blasenwand liegenden Verdickung mit den Blaskugeln von *Nitella* überein, sondern besitzen auch ungefähr die gleiche Größe wie die jüngsten Stadien der Blaskugeln und sind beide mit Rubin S anfärbbar.

Daß Eiweißkörper (denn um solche handelt es sich nach Overton und Votava bei den Stachelkugeln, siehe unten) aus Plastiden entstehen bzw. von ihnen gebildet werden können, wurde bereits oben erwähnt (Molisch). In diesem Zusammenhang sei auch daran erinnert, daß Mottier sowie Vouk eine plastidäre Entstehung auch der Aleuronkörner annehmen; sollte diese Ansicht zutreffen, so bestünde allerdings eine gewisse Ähnlichkeit in der Bildungsweise von Stachelkugeln und Aleuronkörnern, freilich unter ganz anderen Voraussetzungen und in ganz anderer Weise, als sich dies Overton und Votava vorgestellt haben dürften. Die von Wieler vorgetragene Ansicht, daß die Entstehung der Aleuron- wie auch der Stärkekörner von einer blasenförmigen Niederschlagsmembran ausgehen und auf einem nach innen gerichteten Intussuszeptionswachstum beruhe, kann jedenfalls nicht auf die Bildungsweise der Stachelkugeln übertragen werden. Selbst wenn man, was durchaus möglich ist, die Blaskugel als Niederschlagsmembran ansieht, geht die Weiterentwicklung niemals konzentrisch gegen das Blaseninnere, sondern von einem Punkte der Blasenwandung aus.

### 3. Der Chemismus der Stachelkugeln

Hinsichtlich des Chemismus der Stachelkugeln sind, wie einleitend bemerkt, die Ansichten noch geteilt. Overton hält sie vor allem auf Grund der intensiven Methylenblauspeicherung sowie des positiven Ausfalles der Eiweißreaktionen für Gerbstoff-Eiweiß-Verbindungen und erklärt damit deren überraschend hohe Säureresistenz. Votava bestreitet den Gerbstoffgehalt und erklärt die Kugeln als reines Eiweiß; die hohe Säureresistenz konnte sie nicht bestätigen und schreibt sie einer fehlerhaften Beobachtung zu. Eine Nachprüfung ergab nun, daß die Kugeln wohl die verschiedenen Eiweißreaktionen zeigen, die Gerbstoffreaktionen ( $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{OsO}_4$ ) aber negativ

ausfielen; auch der übrige Zellinhalt erwies sich in Übereinstimmung mit älteren Angaben (Pfeffer) als vollkommen gerbstofffrei. Andererseits konnte die von Votava bestrittene außerordentlich hohe Säureresistenz der Kugeln vollauf bestätigt werden. Man kann wenig Zellsaft mit reichlich konzentrierter Schwefelsäure innigst vermischt über Nacht stehen lassen, ohne daß sich, von einer teilweisen Verquellung der Stacheln und einer Zunahme der Transparenz abgesehen, an ihrer Gestalt und am Aussehen wesentliches ändert; selbst Verfärbung konnte nicht beobachtet werden. Erwärmung der in Schwefelsäure liegenden Stachelkugeln auf dem Mikroheiztisch bringt gleichfalls zunächst nur die Stacheln zur Verquellung und schließlich zum Verschwinden; die nunmehr glattbegrenzte Kugel erwies sich aber als äußerst widerstandsfähig; sie löst sich erst bei einer Temperatur von 100–105° C ohne Rückstand auf, ohne sich dabei zu verfärben. Dieses Verhalten braucht indes keineswegs dem Vorhandensein von organischen Stoffen wie Eiweiß zu widersprechen. Pulvergelatine behält, in konzentrierter Schwefelsäure aufgeschwemmt, geraume Zeit ihre körnige Struktur, ohne zu verquellen oder sich zu verfärben; bei Erwärmung der Schwefelsäure löst sich die Gelatine gleichfalls ohne Verfärbung auf, erst nach vollständiger Lösung beginnt die Schwefelsäure nachzudunkeln. Auch die Kunstgriffe, die zur vollständigen Zersetzung der Eiweißkörper im Kjeldahl-Verfahren nötig sind, beleuchten die hohe Säureresistenz mancher Eiweißkörper.

Einen weiteren Hinweis auf die Eiweißnatur der Stachelkugeln liefern Färbungsversuche. Basische Farbstoffe werden durch sie auch *intra vitam* intensiv gespeichert, ihr Verhalten gegen Methylenblau war bereits Pfeffer bekannt und bildete das Hauptindiz für das Vorhandensein von Gerbstoffen in den Kugeln. Nach unseren Beobachtungen wird auch Akridinorange von den Stachelkugeln rasch aufgenommen und zu roter Fluoreszenz gespeichert, und zwar sowohl *intra vitam* als auch im ausgetretenen Zellsaft. Gegen  $p_H$  4–5 wird die Rotfluoreszenz schwächer, in noch stärker sauren Farbbädern tritt statt ihr eine schwach grüne Sekundärfluoreszenz, während die Stachelkugeln primär bläulich fluoreszieren. Färbungsversuche mit Diachromen in Puffern mit abgestuftem  $p_H$  (Phosphatpuffer, mit der Glaselektrode eingestellt) bestätigten, daß um  $p_H$  3 tatsächlich Umladung der Stachelkugeln stattfindet (Tab. 2).

Mit Hilfe des bereits von Drawert zur Bestimmung des IEP von Zellbestandteilen herangezogenen Farbstoffpaares Säurefuchsin-Toluidinblau ergibt sich demnach ein IEP der Stachelkugeln um  $p_H$  3,1. Die Blaskugeln weisen einen ähnlichen, etwas gegen alkalisch verschobenen IEP auf. Andere Farbstoffe verhalten sich ganz ähnlich; als Beispiel ist in obiger Tabelle das Neutralrot sowie Akridinorange, das Strugger zur Bestimmung des IEP eingeführt hat, aufgenommen, welche Farbstoffe ein ganz gleiches Ergebnis liefern. Schließt eine Grünfluoreszenz das Vorhandensein von Gerbstoffen allerdings keineswegs aus (Härtel 1951), so spricht der Färbungsausfall doch eindeutig für das Vorliegen eines amphoteren, umladbaren Körpers, also wiederum von Eiweiß. Das fluoreszenzoptische Verhalten erinnert in mancher Hinsicht an die Rot- bzw. Grünfluoreszenz von Zellkernen bei verschiedenem  $p_H$  (Strugger 1940, Höfler 1949). Um aber die von Höfler

gegebene Deutung der verschiedenen Fluoreszenz auf die Stachelkugeln zu übertragen, fehlen offenbar die Voraussetzungen. Wohl werden wir nicht fehlgehen, wenn wir die Rotfluoreszenz im alkalischen Bereich bzw. oberhalb des Umschlagpunktes ( $p_H$  ca. 3) auf elektrostatische Adsorption unter gleichzeitiger Kationenpolymerisation zurückführen; Auswaschungsversuche mit  $\text{CaCl}_2$  fielen allerdings wegen begreiflicher versuchstechnischer Schwierigkeiten wenig überzeugend aus. Es sind jedoch kaum Anhaltspunkte vorhanden, der Grünfluoreszenz der Stachelkugeln eine chemische Farbstoffbindung zugrunde zu legen (Höfler). Thymonukleinsäure konnte nicht nachgewiesen werden, Gerbstoffe fehlen gleichfalls, auch Lipoide liegen nicht vor, auch das Vorkommen anderer Stoffe wie organischer Säuren (vgl. Drawert) ist wohl recht unwahrscheinlich. Dagegen stimmt das Verhalten der Akridinfluorochromierten Stachelkugeln weitgehend mit dem von Boerner-Patzelt jüngst beschriebenen Verhalten verschiedener Modell-Eiweißkörper überein.

Tab. 2. Färbung mit sauren und basischen Farbstoffen bei abgestuftem  $p_H$

Stachelkugeln ( $p_H$ )	Säurefuchsin	Neutralrot	Toluidinblau	Akridinorange
2,1	+++	--	--	grün
3,1	±	±	-- ±	graugrün
4,3	(±)	++	+	gelbgrün
5,6	--	+++	+	gelbrot
6,4	--	+++	+	rot
8,2	--	+++	+	rot
Blaskenkugeln				
2,1	+	--		
3,1	±	--		
4,3	--	+		
5,6	--	+		

Wir können zwar in eine nähere Erörterung der Speichervorgänge bzw. der von Boerner-Patzelt gegebenen Erklärung nicht eintreten, da wir auf Grund unserer Beobachtung an einem für derartige Versuche höchst ungeeignetem Objekt nichts wesentliches beitragen können; aus dem gleichartigen Verhalten von Modelleiweiß (Aktomyosin) und Stachelkugeln glauben wir aber schließen zu dürfen, daß der Umschlag der Fluoreszenz von rot nach grün durch Eiweiß allein bedingt sein kann und keineswegs zur Annahme einer zweiten Komponente zwingt.

Den stichhaltigsten Beweis für die Eiweißnatur der Stachelkugeln vermag der Verdauungsversuch zu erbringen. Läßt man den Zellinhalt in eine Pepsin-Salzsäure-Lösung austreten, so bleibt die äußere Kontur der Kugeln zunächst erhalten. Nach 24stündiger Einwirkung können die Stacheln vielfach verquollen erscheinen, die Kugelgestalt bleibt jedoch unverändert. Nach kurzem Erwärmen (nicht Sieden) wird die Kugel stark transparent und zeigt vielfach eine deutliche konzentrische Schichtung (Abb. 4 b). Die Kugeln zeigen nunmehr eine sehr geringe mechanische Widerstandsfähigkeit, beim geringsten Druck des Deckglases werden sie deformiert und zerquetscht, auch ihre ursprünglich so hohe Resistenz gegenüber chemischen Agentien ist ge-

schwunden; Zusatz von Schwefelsäure oder verdünntem Alkali löst die Kugeln nunmehr in kürzester Zeit ohne jeden Rückstand auf. Die Schichtung deutet auf eine schrittweise Ablagerung bzw. auf eine Bildung der Stachelkugel von innen her, was wieder in guter Übereinstimmung mit unseren Beobachtungen von der Bildungsweise der Stachelkugel steht. Der nach der Pepsinverdauung verbleibende Restkörper zeigt keine deutlichen Reaktionen; er ist wie die native Kugel in Fettlösungsmitteln (Alkohol-Äther, Pyridin) unlöslich, Sudan III wird nicht gespeichert, Jod bzw. Chlorzinkjod ergibt eine Braunfärbung wie bei der nativen Kugel. Eiweißreaktionen lassen sich nicht mehr durchführen, da sich die Kugeln unter der Einwirkung der Agentien (Schwefel- oder Salpetersäure, Alkali) in kürzester Zeit auflösen. Wir glauben annehmen zu können, daß auch der nach dem Verdauungsversuch verbleibende Restkörper aus, wahrscheinlich teilweise abgebautem, Eiweiß besteht, halten es aber angesichts der Vernichtung der außerordentlich hohen Resistenz der Stachelkugeln durch die Enzymbehandlung für erwiesen, daß die Resistenz nur auf einen Eiweißkörper zurückgehen kann, so daß auch auf Grund dieses Versuches kein Grund zur Annahme einer Komplexverbindung vorliegt.

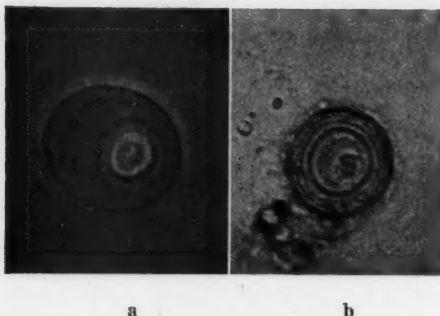


Abb. 4. a. Phasenkontrastbild einer Stachelkugel mit abgesprungener Blase (vgl. S. 527). b. Stachelkugel nach Behandlung mit Pepsin-Salzsäure.

Die biologische Bedeutung der Stachelkugeln liegt allerdings nach wie vor im Dunkeln. Zwar wäre es denkbar, daß die *Nitella*-Zelle über eiweißverdauende Enzyme verfügt, mit deren Hilfe einmal gebildete Stachelkugeln wieder aufgelöst werden können; es gelang jedoch nicht, durch mehrwöchiges Dunkelstellen von *Nitella*-Kulturen eine Verringerung der Anzahl der Stachelkugeln zu erzielen. Ob Beziehungen zwischen verschiedenen Außenfaktoren und der Ausbildung der Stachelkugeln bestehen, bliebe zu untersuchen. Es fällt auf, daß im Zellinhalt Eiweiß in oft so reichlicher Menge nachgewiesen werden kann, daß eiweißfällende Agentien wie Alkohol, Sulfosalicyl- und Trichloressigsäure eine dick milchige Trübung hervorrufen. Eine solche entsteht auch bei Sättigung mit Ammoniumsulfat, während Halbsättigung kaum eine Trübung ergibt; es scheint sich demnach um Albumine zu handeln. Es wäre denkbar, daß gewissermaßen „überschüssiges“ Eiweiß, das nicht in den weiteren Stoffwechsel einbezogen wird, in den Stachelkugeln (reversibel oder irreversibel) festgelegt wird; auch die außerordentlich intensive Stärkereaktion deutet darauf hin, daß die Pflanze offenbar nicht alle gebildeten Assimilate sofort weiter verarbeitet, sondern zum Teil ungenutzt aufspeichert. Die Stachelkugeln wären demnach als Ausdruck eines exzes-

siven Stoffwechsels als „luxus naturae“ (Boas 1949) anzusehen. In der mehrzelligen höheren Pflanze können die Produkte eines solchen exzessiven Stoffwechsels unter Umständen in Idioblasten abgelagert werden (vgl. Härtel, Kenda u. Weber 1950); da bei den polyenergidischen Zellen von *Nitella* die anatomischen Voraussetzungen für eine derartige Ablagerung fehlen, wäre es denkbar, daß sich Analoges in den Zellorganellen abspielen könnte. Die Beschränkung des Vorkommens der Stachelkugeln auf eine kleine Gruppe auch systematisch einander nahestehender *Nitella*-Arten (Votava) zeigt jedenfalls, daß diese eigenartigen Zellinhaltskörper keine für die Charophytenzelle lebensnotwendige Rolle spielen.

### Zusammenfassung

1. Die Stachelkugeln aus dem Zellinhalt von *Nitella opaca* sind zwar den daneben stets reichlich vorkommenden Blaskugeln homolog, entstehen aber, entgegen älteren Angaben (Overton, Votava), nicht durch Umbildung aus Blaskugeln älterer Internodien. Die Ausbildung der Stachelkugeln beginnt in den jüngsten Internodien mit einem bläschenartigen Stadium; von einer Plasmaanreicherung in der Bläschenwand wächst die Stachelkugel ins Innere der Blase; sie ist zunächst mit einem Stielchen an die Blasenwand angeheftet, die Anheftungsstelle ist oftmals an der fertigen Stachelkugel als Eindellung, Erhebung oder durch eine in ihr Inneres führenden Pore erkennbar. Die fertige Stachelkugel ist mit einem, wenn auch meist erst nach Fixierung sichtbaren, plasmatischen Hof umgeben, von dem auch das Abspringen einer neuen blasenartigen Membran bei Berührung mit Wasser oder Salzlösungen ausgeht.

2. Es werden Argumente, die für die Annahme einer plastidären Entstehung der Stachelkugeln sprechen, beigebracht (feste Begrenzung auch der jüngsten Stadien, Nichtmischbarkeit mit dem Protoplasma, Teilungsfähigkeit, Lage im Zytoplasma).

3. Chemische, färbungsanalytische sowie Verdauungsversuche beweisen, daß die hohe Resistenz der Stachelkugeln gegenüber chemischen Einwirkungen dem Eiweißkörper, aus dem sie aufgebaut sind, zukommt; es liegen keine Anhaltspunkte für die Annahme einer zweiten Komponente oder einer Komplexverbindung vor.

4. Die Stachelkugeln werden als Produkte eines exzessiven Stoffwechsels gedeutet.

### Literatur

- Boas 1949: Dynamische Botanik. München.  
Boerner-Patzelt 1951: Über ursächliche Faktoren der polychromen Fluoreszenz von Geweben und Gewebebestandteilen nach Fluorochromierung mit nur einem Fluorochrom. Protoplasma 39, 639.  
Corti 1774: zit. n. Overton.  
Drawert 1937: Das Verhalten der einzelnen Zellbestandteile fixierter pflanzlicher Gewebe bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration. Flora 32, 91.  
Goeppert und Cohn 1849: Über die Rotation des Zellinhaltes in *Nitella flexilis*. Botan. Ztg. 1849.

- Guilliermond-Mangenot-Plantefol 1933: *Traité de cytologie végétale*. Paris.
- Härtel 1951: Gerbstoffe als Ursache „voller“ Zellsäfte. *Protoplasma* 40, 338.
- Kenda und Weber 1951: Plasmal-Idioblasten im Mesophyll von *Verbascum Blattaria*. *Protoplasma* 39, 629.
- Höfler 1947: Was lehrt die Fluoreszenzmikroskopie von der Plasmapermeabilität und Stoffspeicherung? *Mikroskopie* 2, 13.
- Toth und Luhan 1949: Beruht die Fluorochromfärbung von Zellkernen auf Elektroadsorption an der Eiweißphase? *Protoplasma* 39, 62.
- Küster 1935: *Die Pflanzenzelle*. Jena.
- Mottier 1921: zit. n. Küster und Vouk.
- Meyer 1883: Das Chlorophyllkorn in chemischer, morphologischer und biologischer Beziehung. Leipzig.
- Molisch 1901: *Studien über den Milchsaft und Schleimsaft der Pflanzen*. Jena.
- 1923: *Mikrochemie der Pflanze*. 2. Aufl. Jena.
- Nägeli und Schwendener 1867: *Das Mikroskop*. Leipzig.
- Overton 1890: Beiträge zur Histologie und Physiologie der Characeen. *Bot. Cbl.* 44, 1.
- Pfeffer 1886: Über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. *Unters. bot. Inst. Tübingen* II, 179.
- 1897: *Pflanzenphysiologie*. 2. Aufl. Leipzig.
- Strugger 1940: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Aufnahme und Speicherung des Akridinorange durch lebende und tote Pflanzenzellen. *Jen. Ztschr. f. Naturw.* 73, 97.
- Vratar 1949: Morphologie et l'origine plastidique des globules de caoutchouc chez *Ficus carica* et *Ficus elastica*. *Acta bot. Inst. botan. Univ. Zagreb*. 12/13, 185.
- Votava 1914: Beiträge zur Kenntnis der Inhaltskörper und der Membran der Characeen. *Öst. Bot. Ztschr.* 64, 442.
- Vouk 1925: Über den plastidogenen Ursprung der Aleuronkörner. *Acta bot. Inst. R. Univ. Zagreb*. 1, 37.
- Wieler 1944: Der feinere Bau der Aleuronkörner und ihre Entstehung. *Protoplasma* 38, 21.



## Die protoplasmatische Organisation

Dem Gedächtnis Ernst von Brückes

Von

Wilhelm Troll, Mainz

Mit 3 Textabbildungen

(Eingelangt am 15. Mai 1951)

Leben ist, wo immer es uns begegnet, auf ein bestimmtes stoffliches Substrat, nämlich die organismische Zelle, angewiesen, sei es, daß es von einer einzelnen Zelle oder, wie es die vorherrschende Regel darstellt, von einem Zellverband getragen wird. Die Zelle selbst wieder bietet sich, ihrem Wesen nach betrachtet, als Protoplast dar, d. h. als ein aus Protoplasma bestehender Körper von mikroskopischen Ausmaßen. Als solcher läßt sie stets eine bestimmte Gliederung erkennen, vor allem in die unter der Bezeichnung Cytoplasma bekannte plasmatische Grundsubstanz und den Zellkern bzw. die Kernsubstanz, die auch dort vorhanden ist, wo ein vom Cytoplasma scharf geschiedener Zellkern fehlt. Die Pflanzenzellen verfügen zudem größtenteils noch über sog. Plastiden, ebenfalls protoplasmatische Strukturen, die besonders in Gestalt der grünen Farbkörper (Chloroplasten) bekannt sind. Als freilich mehr akzessorischer Bestandteil kommt noch die Zellmembran in Betracht, ein Plasmaprodukt, dessen Ausbildung namentlich für die Zellen der Pflanzen mit Einschluß der Bakterien charakteristisch ist.

An diese Grundtatsachen sollte zunächst erinnert werden, bevor wir uns dem Problem der protoplasmatischen Organisation zuwenden, das gegenwärtig in den Erörterungen über die Natur des Protoplasmas an zentrale Stelle rückt. In dieser Hinsicht ist von erheblichem Interesse, daß Ernst von Brücke bereits 1861, also vor nunmehr 90 Jahren, Anschauungen vertreten hat, die das, was wir vom Protoplasma heute wissen oder anzunehmen gezwungen sind, im Kerne vorwegnehmen. Den Manen dieses außerordentlichen Mannes, den man mit Recht den Klassikern biologischer Forschung zugesellt hat, sollen die nachfolgenden Ausführungen über die protoplasmatische Organisation gewidmet sein, die mit einer begrifflichen Klärung einsetzen und auf der so gewonnenen Grundlage das Problem nach drei Richtungen hin zu entwickeln versuchen.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Vgl. W. Troll, Das Virusproblem in ontologischer Sicht. Wiesbaden 1951.

### I. Begriffliche Klärung

Will man von Brückes weitblickende Konzeption recht würdigen, so tut man gut daran, sich die Vorstellungen zu vergegenwärtigen, mit denen die Ära Haeckels und Haeckel selbst noch bis in unser Jahrhundert herein (1917, S. 40) dem Phänomen der organismischen Zelle gerecht werden zu können glaubten. Sie sollte in ihrer Urform — Haeckel sprach von „Moneren“ — ein „strukturloser Plasmakörper“ sein, die formlose Masse eines undifferenzierten Schleimes gleich jenem von dem Zoologen Huxley zu Ehren Haeckels so benannten „*Bathybius Haeckelii*“, den Tiefseelotungen vom Meeresboden emporgeholt hatten und der sich nachher als Artefakt erwies (Teichmann und Rhumbler 1935, S. 115). Strukturlosigkeit im Sinne von Homogenität jedenfalls sollte den die Substanz jener mutmaßlichen „Elementarorganismen“ bildenden „Urschleim“ auszeichnen, und auch dem Cytoplasma behäuteter, mit Kern versehener Zellen schrieb man kaum eine andere Beschaffenheit zu, wenn man es weithin als eine bloße „Eiweißlösung“ betrachtete. Kein Wunder daher, daß die Annahme einer spontanen Entstehung plasmatischer Substanz aus anorganischen Materialien jener Zeit keine ernstlichen Schwierigkeiten zu bereiten, die anorganische Stoffwelt sich also lückenlos in die Stoffwelt des Biologischen fortzusetzen schien (vgl. Troll, a. a. O., S. 113 ff.).

Heute freilich wissen wir, daß sich am Aufbau des Protoplasmas nicht nur eine Vielzahl sehr verschiedener Stoffe beteiligt, daß diese auch nicht ein bloßes, wenngleich höchst komplexes Gemisch bilden; noch wichtiger ist die Feststellung, daß die Teilchen darin in bestimmter, sogar höchst verwickelter Weise geordnet sein müssen. In dieser Erkenntnis eben ist von Brücke seiner Zeit weit vorausgeeilt, und er hat ihr durch die Prägung des Begriffes der protoplasmatischen Organisation Ausdruck verliehen.

Hören wir aber ihn selbst. „Von den organischen Substanzen welche in die Zusammensetzung der Zelle eingehen, wissen wir, daß die Struktur ihres Moleküls schon eine sehr komplizierte ist... Aber wir können uns mit einer solchen, wenn auch komplizierten Molekularstruktur für die Zelle nicht begnügen. Wir können uns keine lebende vegetierende Zelle denken mit homogenem Kern und homogener Membran und einer bloßen Eiweißlösung als Inhalt. Wir müssen deshalb den lebenden Zellen, abgesehen von der Molekularstruktur der organischen Verbindungen, welche sie enthält, noch eine andere und in anderer Weise komplizierte Struktur zuschreiben, und diese ist es, welche wir mit dem Namen Organisation bezeichnen“ (1861, S. 386).

Unter der „protoplasmatischen Organisation“ haben wir also spezifisch biologische Strukturen zu verstehen, das soll heißen: Strukturen, die dem Chemismus der beteiligten Stoffe übergeordnet sind und somit auch nicht von ihm abgeleitet werden können, so sehr sie sich andererseits auf die chemische Natur der Komponenten gründen. „Die zusammengesetzten Moleküle der organischen Verbindungen sind hier“, wie wiederum von Brücke (1861, S. 386) erläuternd ausführt, „nur die Werkstücke, die nicht in einförmiger Weise eines neben dem anderen aufgeschichtet, sondern zu einem lebendigen Baue kunstreich zusammengefügt sind.“

Diese in beinahe aphoristischer Präzision ausgesprochenen Gedanken hat dreieinhalb Jahrzehnte später Pfeffer (1897) aufgenommen, wenn er sehr richtig meint, man müßte, selbst wenn dem bewaffneten Auge die direkte Wahrnehmung einer Organisation versagt bliebe, doch einen Aufbau des Protoplasten aus distinkten „Elementen“ fordern, die, wenn sie auch im kleinen Raum unter die Grenze des Sichtbaren sinken, deshalb nicht minder bedeutungsvoll sind. Denn anders als durch das Zusammenwirken verschiedenartiger Glieder ist ein regulatorisches Lebensgetriebe ebensowenig zu verstehen, wie der gesetzmäßige Gang einer Uhr oder einer Spieldose, solange die Betriebskräfte nicht erlöschen, in bestimmter Reihenfolge und Wiederholung eine Harmonie von Tönen erklingen läßt. „Allein schon diese Überlegung sagt unzweideutig aus, daß selbst die beste chemische Kenntnis der im Protoplasten vorkommenden Körper für sich allein ebensowenig zur Erklärung und zum Verständnis der vitalen Vorgänge ausreichen kann, wie die vollendetste Kenntnis von Kohle und Eisen zum Verständnis einer Dampfmaschine und der mit dieser betriebenen Buchdruckerpresse“ (S. 3). „Denn eine jede physiologische Einheit ist zweifellos nicht eine chemische Verbindung, sondern ein organisierter Körper. ... Doch ist natürlich die genaue chemische Kenntnis der aufbauenden Stoffe eine unerläßliche Vorbedingung für allen Fortschritt, und es ist gar nicht abzusehen, welche eminente physiologische Bedeutung die volle Aufhellung der konstitutionellen und anderer Eigenschaften der Proteinstoffe erlangen wird“ (S. 52).

Insgesamt liegt die Kenntnis der protoplasmatischen Organisation bei allen Erfolgen, die in der Zwischenzeit in dieser Hinsicht erzielt worden sind, auch heute noch sehr im argen. Am weitesten ist die Erforschung, des Plastiden- und Kernbaues, insonderheit die des Chromosomenbaues, gediehen. Am Beispiel dieser Strukturen wollen wir deshalb die grundsätzlichen Erörterungen, von denen wir kommen, in erster Linie erläutern, schon um dem zuweilen geäußerten Irrtum zu begegnen, als handle es sich bei den genannten Gebilden um bloße makromolekulare Komplexe (z. B. Friedrich-Freksa, 1948).

Aber auch das Cytoplasma verfügt zweifellos über eine besondere, dem Chemismus übergeordnete Struktur. Das meint Frey-Wyssling (1938, S. 165), wenn er es als „Gerüst von bestimmter molekularer Formgestaltung“ zu charakterisieren versucht. Auch Bogen (1948, S. 299) spricht von einer „hochorganisierten, ja geradezu einmaligen Verknüpfung“. Schon die Bausteine des Protoplasmas, sonderlich die Eiweißkörper, sind höchst geordnete Gebilde und in dieser ihrer Ordnung selbst wieder nur zu verstehen, wenn man bedenkt, daß es sich um Produkte des Lebens, näherhin eines von der Zelle ausgehenden überformenden Einflusses handelt. M. Staudinger (1950, S. 202) bezeichnet die biologisch-plasmatischen Eiweißstoffe als „Meisterstücke molekularer Architektur“ und von den Gen-Eiweißstoffen im besonderen lesen wir bei Schrödinger (1946, S. 120), daß sie „zweifellos den höchsten uns bekannten Grad geordneter Atomassoziationen darstellen.“ Und er fügt hinzu: „der immer und immer zu betonende Punkt ist, daß der Stand der Angelegenheit für den Physiker nicht nur nicht plausibel, sondern höchst aufregend ist.“ Im Unterschied zur Aufklärung der Plastiden- und

Chromosomenorganisation haben wir jedoch zur Zeit noch keine Hilfsmittel, die es uns erlauben, diese cytoplasmatische Organisation zu erkennen. Nur indirekt können wir auf ihr Vorhandensein schließen. In dieser Hinsicht kommt größte Bedeutung der enzymatischen Ausrüstung der Zelle zu, mit der wir uns deshalb im Anschluß an die Erörterung des Plastiden- und Chromosomenbaues befassen wollen, um endlich zu der Frage nach dem Wesen des organismischen Seins zurückzukehren, deren Lösung von der Zelle her versucht werden muß.

## II. Plastidenbau

Wie schon erwähnt, sind die Plastiden plasmatische Gebilde. Das Plastidenplasma (Stroma) unterscheidet sich aber vom Cytoplasma nicht unwesentlich durch seinen Lipoidgehalt. Dieser beträgt im Cytoplasma nur etwa 2–3%, während die Lipide im Plastidenplasma bis zu 40% der Gesamtmasse ausmachen. Dazu kommen Farbstoffe, in den Chloroplasten neben gelben Pigmenten (Carotinoiden) namentlich Chlorophyll. Die Grundsubstanz des Stromas wird von Eiweißstoffen gebildet, unter denen sich zweifellos auch Nucleoproteide befinden.

Schon seit langem ist bekannt, daß das Chlorophyll in den Chloroplasten, zumal denen der höheren Pflanzen, inhomogen verteilt ist. Man spricht von einer Grana-Struktur der Chloroplasten und versteht darunter die Erscheinung, daß die Pigmente sich in ihnen nicht über das gesamte Stroma ausbreiten, sondern auf scheibenförmige „Körner“ (Grana) beschränkt sind (Abb. 1 I). Diese selbst ordnen sich bestimmten Horizonten ein, als deren örtliche Verdickung sie sich darbieten. Das Stroma weist also einen lamellaren Bau auf (Abb. 1 II).

Aber auch die Grana besitzen einen geschichteten Bau, der allerdings unter der mikroskopischen Sichtbarkeitsgrenze liegt und nur indirekt erschlossen werden kann. Verschiedene Umstände sprechen dafür, daß in ihnen Protein- und Lipoidlagen regelmäßig miteinander abwechseln (Abb. 5 III). An erstere wären Schema Abb 5 IV zufolge die durch ein stempelartiges Symbol versinnbildlichten Chlorophyllmoleküle gebunden, die im übrigen frei in die zwischen je zwei Proteinlagen sich einschübende Lipoidschicht hineinragen. Was diese anlangt, der auch die stabförmigen Carotinoidmoleküle eingefügt sind, so dürfte sie aus Lecithinmolekeln bestehen, die, stimmungsgabelartig gebaut und parallel geordnet, jeweils auf ein Chlorophyllmolekül bezogen sind.

Im einzelnen werden diese Vorstellungen noch mancherlei Korrekturen erfahren müssen. Schon jetzt aber dürfen wir sagen, daß es abwegig wäre, auch nur in dem einzelnen Granum eine Struktur im Sinne der Chemie zu erblicken. Natürlich stehen die am Aufbau beteiligten Moleküle miteinander in einem chemisch definierbaren Konnex. Insofern beruht das Gefüge auf dem chemisch-physikalischen Verhalten seiner Komponenten. Seine unbestreitbare Eigenart jedoch läßt sich nicht allein aus chemischen Voraussetzungen verstehen. Sie trägt vielmehr ausgesprochen biologisches Gepräge, mit anderen Worten: der Chemismus der Teilchen ist einem biologischen

Ordnungsprinzip unterstellt. Die Meinung gar, es könnte hier eine bloße, wenn auch verwickelte Molekularstruktur vorliegen, geht vollends am Wesen der Sache vorbei. Man darf deshalb auch nicht, wie es Friedrich-Freska (1948, S. 23) unterlaufen ist, Plastiden und Nucleoproteide, als wären es gleichwertige Gebilde, sozusagen in einem Atemzug nennen.

### III. Chromosomenbau

Die Chromosomen sind fädige Gebilde, deren Länge im einzelnen recht verschieden ist. Bei mikroskopischer Analyse zeigen sie eine hohe Komplikation des Aufbaues, der von einer strengen Ordnung der Bauglieder beherrscht wird.

Die Grundlage der Chromosomenstruktur stellt das sog. Chromonema dar, selbst wieder ein überaus zarter Faden, eigentlich ein Doppelfaden, der von einer Hülle, der Matrix, umgeben wird. Mindestens zeitweise ist das Chromonema mit Nucleinsäure beladen, worauf seine starke Färbbarkeit mit spezifischen Farbstoffen beruht. Die Nucleinsäureanlagerung erstreckt sich jedoch nicht gleichmäßig über die gesamte Länge des Chromonemas; sie ist vielmehr auf bestimmte Stellen beschränkt, die man wegen ihrer eben durch den Nucleinsäuregehalt bedingten Färbbarkeit Chromomeren nennt. Diese sind also jeweils durch nucleinsäurefreie oder doch nucleinsäurearme Fadenstrecken voneinander getrennt (Abb. 2). Den Chromomeren kommt deshalb besondere Bedeutung zu, weil man annehmen muß, daß in ihrem Bereich die stofflichen Grundlagen der vererbaren Merkmale, also der Gene, lokalisiert sind.

Die Frage ist: welche Vorstellungen haben wir uns vom molekularen Aufbau auch dieser Struktur zu bilden? Wir sind freilich noch weit davon entfernt, hierauf eine einigermaßen sichere Antwort geben zu können. Immerhin verfügen wir über bemerkenswerte Anhaltspunkte, die es uns erlauben,

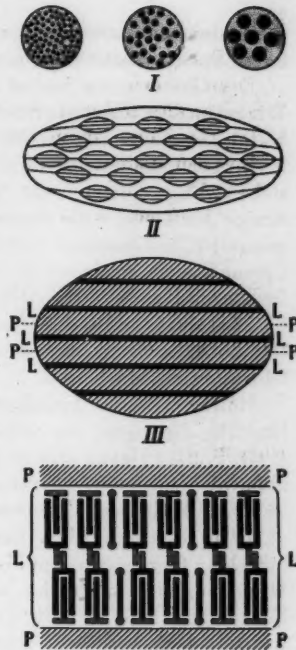


Abb. 1. Chloroplastenbau. I Chloroplasten mit Grana von verschiedener Zahl und Größe. II Chloroplast im schematisierten Durchchnitt, den lamellaren Feinbau zeigend; die Grana, die selbst wieder geschichtete Struktur besitzen, stellen periodisch angeordnete Verdickungen der Lamellen dar. III Granum schematisch, den submikroskopischen Aufbau aus Protein- (P) und Lipidschichten (L) zeigend. IV Struktur der Lipidschichten, denen die Chlorophyll- und Carotinoidmoleküle angehören. Erstere durch stempel-, letztere durch stabförmige Symbole gekennzeichnet; die stimmigabelförmigen Symbole versinnbildlichen die Lipidmoleküle. Buchstabenbezeichnung wie in III. Nach Heitz, Menke und Hubert.



wenigstens bestimmte Vermutungen zu äußern, Annahmen, die keineswegs bloße Spekulation sind, sondern sich auf Erfahrungsdaten gründen.

Das Chromonema besitzt allem Anschein nach einen fibrillären Feinbau. Wir müssen es somit als Bündel von Fadenmolekeln, und zwar von Proteinketten betrachten, die parallel zueinander gelagert sind und wahrscheinlich auch über ihre Seitenketten, mindestens teilweise, miteinander in Konnex stehen. Dazu kommen die Nucleinsäuren, die als Polynucleotide ebenfalls riesige Fadenmoleküle darstellen. Nur erstrecken sie sich nicht über das gesamte Chromonema; vielmehr beschränkt sich ihr Vorkommen auf die Chromomeren, in denen sie Schema Abb. 3 zufolge zwischen die auch diese färbbaren Bezirke durchziehenden Proteinketten eingeschaltet sind (I), wohl unter salzartiger Bindung an die basischen Seitenketten der Proteinfäden (II), so daß wir es in diesem Bereich mit einer nucleoproteidartigen Konfiguration zu tun haben.

Halten wir nun Ausschau nach einer molekularmorphologischen Unterlage für die Gene, die wir mit Timoféeff-Ressovsky und Zimmer (1947, S. 247 f.) ganz allgemein als je eine „physikochemische Einheit“ bzw. als „wohldefinierten Atomverband“ ansprechen wollen, so kann diese nur im Proteidanteil der Chromomeren, d. h. den Eiweißketten mit ihren Seitengliedern gesucht werden. Bei der ungeheuren Zahl der Merkmale, die den einzelnen Organismus, und bestehe er nur aus einer einfachen Zelle, charakterisieren, muß auch eine entsprechende Mannigfaltigkeit der einzelnen Erbanlagen bzw. der sie repräsentierenden Atomgruppen angenommen werden. Der Aufgabe, derart zahlreiche Muster bereitzustellen, sind aber allein die Proteine gewachsen. Die chemische Konstitution der Nucleinsäuren ist demgegenüber relativ einförmig, entbehrt also der erforderlichen molekularmorphologischen Vielgestaltigkeit.

Berechnungen lehren, daß schon ein einzelnes Chromomer hunderte von solchen spezifischen Gruppen und somit, da deren jede Vertreter eines Gens wäre, ebensovielen Erbinheiten enthalten könnte. Und da ferner die Chromomeren im Chromosom stets in Vielzahl und die Chromosomen im Kern selbst wieder in Mehrzahl vorhanden sind, so besteht, wie Frey-Wyssling (1938, S. 189 f.) sich ausdrückt, vorläufig keine Sorge, es könnte die submikroskopische Morphologie den Ansprüchen, die die Erbanalyse an die Zahl der Gene stellt, in Bälde nicht mehr genügen.

Welche Rolle spielen nun aber die Nucleinsäuren im Aufbau der Chromosomen? Man kann mit Frey-Wyssling (1938, S. 189) an eine Maskierungsfunktion denken, d. h. daran, daß sie die den Genen entsprechenden Polypeptidketten zur Zeit der Kernteilung, wo sie nicht reaktionsfähig zu sein brauchen, abschirmen und so vielleicht auch vor chemischen Veränderungen schützen. Wichtiger dürfte eine andere Aufgabe sein, die nämlich, die Neubildung der Gensubstanz aus ihresgleichen zu ermöglichen.

Damit haben wir den molekularen Aufbau der Chromosomen in den von unseren noch sehr dürftigen Kenntnissen gezogenen engen Grenzen kurz geschildert. Erstaunliche Einblicke konnten schon gewonnen werden. Mehr noch bleibt der Zukunft vorbehalten. Ist aber, so lautet die uns hier entscheidend interessierende Frage, zu erwarten, daß die Chromosomenstruktur



und andere, ihr vergleichbare plasmatische Strukturen sich im Fortgang der Forschung auf diesem Wege einem rein chemischen Verständnis erschließen werden?

Lehrreich ist hier ein Hinweis auf die Membran der Pflanzenzelle. Bei ihr handelt es sich nicht um eine plasmatische Struktur im eigentlichen Sinn, vielmehr um ein Plasmaprodukt, an dessen Aufbau sich vorwiegend Cellu-

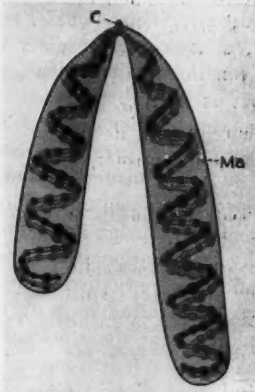


Abb. 2. Chromosom und Doppeldchromonema in gemeinsamer Hülle (Matrix, Ma); die knotenförmigen Verdickungen der Chromonemen stellen die Chromomeren dar. C das sogenannte Centromer.

Nach Heitz.

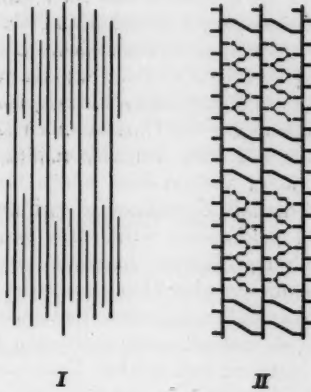


Abb. 3. Chromosomenbau, schematisch. I Übersicht, die langen Polypeptidketten und die zwischengelagerten Nucleinsäuren zeigend. II Ausschnitt aus I in detaillierter Darstellung. Die Polypeptidketten sind in den nucleinsäurehaltigen Bereichen über die Phosphorsäurereste der Polynucleotide (Punkte), sonst über ihre Seitenketten miteinander verbunden. Nach Frey-Wyssling und Schmidt.

lose beteiligt. Als Polysaccharid zeigt diese den bekannten Kettenbau. Auch die Cellulosemoleküle sind somit fadenförmige Makromoleküle, die freilich in der Membran nicht so sehr einzeln auftreten, sondern, durch chemische oder zwischenmolekulare Kräfte vereinigt, Fibrillen (Mikrofibrillen) bilden. Von diesem fibrillären Feinbau konnte man sich neuerdings an elektronenmikroskopischen Aufnahmen einwandfrei überzeugen. Man sollte nun meinen, daß damit der Membranbau einer rein chemisch-physikalischen Erklärung zugänglich geworden wäre. Mitnichten, gerade die modernste Richtung der Membranforschung kommt zu dem Schluß, daß ihre Befunde für eine „Kontrollierung“ der Fibrillenbildung durch das lebende Protoplasma sprechen (Frey-Wyssling, Mühlethaler und Wyckoff 1948, S. 475). Mehr noch: auch die Cellulosemoleküle selbst bereiten einer Betrachtung nach bloß chemischen Prinzipien Schwierigkeiten. Wiederum

„erscheint die biologische Struktur als das Primäre gegenüber dem chemischen Vorgang“ (G. V. Schulz und E. Husemann 1946, S. 268).

Wenn also schon im Falle der Cellulose, bei der die Verhältnisse relativ einfach liegen, der Chemismus zur Erklärung der biologischen Struktur allem Anschein nach nicht ausreicht, dann sind die Aussichten für die plasmatischen Eiweißstoffe mit ihrer hohen, ja höchsten Spezifität noch ungleich geringer, es sei denn, daß man mit H. Staudinger (1946, S. 833) den Begriff einer „organismischen Chemie“ bildet, die mit einem „neuen Prinzip“ (S. 863) rechnen muß, das sie selbst zwar nicht erfassen, aber in seiner Wirksamkeit verfolgen kann. Staudinger sagt von ihm, daß es den „physikalischen und chemischen Mechanismus benutzt und ihn dirigiert“.

Was nun gar die Chromosomen anlangt, so versagt hier der Begriff des Moleküls, der schon bei makromolekularen Naturstoffen problematisch ist, völlig, ja er verliert hier seinen Sinn. Dies mit Nachdruck zu betonen, besteht deshalb Veranlassung, weil das Chromosom zuweilen einem Eiweißmolekül gleichgesetzt wird.<sup>2</sup> Mag immerhin das Chromonema aus gebündelten Polypeptidketten bestehen: welches physikalisch-chemische Prinzip schreibt diesen aber ihre spezifische Länge und ihre periodische Struktur vor? Wie wollte man ferner die Gliederung dieses Zentralfadens in die durch Nucleinsäuregehalt ausgezeichneten Chromomeren und die nucleinsäurefreien Strecken nach solchen Prinzipien verstehen? Zu alledem kommt, daß in den Chromomeren die Gene lokalisiert sind, und dies in einer streng geregelten Folge, die in gesetzmäßiger Beziehung zum Ganzen des Organismus steht und deshalb offenbar von dorthier, nicht durch die chemischen Komponenten des chromosomalen Gefüges bestimmt ist. Damit aber erweist sich das Chromosom als eine der höchstgeordneten Zellstrukturen von ausgesprochen organismischem Gepräge.

Will man sich der Sprache des Chemikers bedienen, so könnte man diese Strukturen im Sinne H. Staudingers (1947, S. 126 f.) als „Mischstoffe“ betrachten. „Dieser Begriff umfaßt nicht nur regellose Gemische verschiedener Stoffe, die lebenswichtig sind, sondern vor allem auch solche Gemische, zwischen deren Bestandteilen ein ganz bestimmter Zusammenhang besteht, der bei der Bildung eines solchen Mischstoffes geschaffen und von diesem festgehalten wird.“ Stärker noch betont den Gesichtspunkt der Planmäßigkeit im Aufbau der Mischstoffe M. Staudinger (1950, S. 203), wenn sie sagt, daß in ihnen „eine festgelegte Ordnung bis in die kleinsten Bereiche herrscht“. Derartiges ist allein von organismischen Strukturen bekannt, eine Tatsache, die H. Staudinger a. a. O. mit der Bemerkung unterstreicht, daß es sich bei dem, was mit den Mischstoffen gemeint ist, „mehr um einen biologischen als um einen chemischen Begriff“ handle (Auszeichnung von mir, Tr.). Als Beispiele werden von M. Staudinger auch nur protoplasmatische Gefüge genannt, so die Chromosomen und überhaupt das Protoplasma, „in welchem trotz seiner flüssig anmutenden Beschaffenheit für Ordnung bis in die feinste Dimension gesorgt ist“ (a. a. O., S. 203). Seiner

<sup>2</sup> Vgl. z. B. Reifenberg (1946); ferner Friedrich-Freksta, nach dem „Chromosomen ... Nucleoproteide sind“ (1948, S. 23).

sprachlichen Form nach ist der Begriff des Mischstoffes den von ihm bezeichneten Sachverhalten allerdings recht wenig adäquat, schon deshalb, weil man bei ihm in erster Linie an „regellose Gemische verschiedener Stoffe“ denkt, die er ja ebenfalls einbezieht.

Ein Vergleich mag schließlich nochmals erläutern, was gemeint ist, wenn wir von der Unableitbarkeit der plasmatischen Strukturen von chemischen Strukturprinzipien sprechen. Er betrifft das Verhältnis eines sprachlichen Satzes zu den Wörtern, aus denen er sich zusammensetzt. Jedes Wort hat seinen besonderen Sinn. Der Satz seinerseits ist ebenfalls Ausdruck eines Sinngehaltes, der aber nicht schon mit dem Sinn der Wörter gegeben ist, vielmehr diesem sich überordnet und aus ihm nicht verstanden werden kann. Dieselbe Stufung kehrt im Grunde wieder in dem Verhältnis zwischen den chemischen Verbindungen, die das Plasma aufbauen, und dessen eigener Struktur.

#### IV. Enzymatische Ausrüstung der Zelle

Zur protoplasmatischen Organisation gehört in entscheidender Weise die Ausstattung der Zelle mit Enzymen, plasmatischen Eiweißstoffen von Wirkstoffcharakter, die als solche in engsten Beziehungen zum Stoffwechsel der Zelle stehen. Ihm haben wir zunächst unsere Aufmerksamkeit zuzuwenden.

Der stoffliche Bestand des Protoplasmas ist nicht ein für allemal gegeben. Vielmehr unterliegt er einer fortgesetzten Veränderung, die bis zu den chemischen Bausteinen der plasmatischen Substanz herabreicht. So lehrten Beobachtungen an Tieren, an die Aminosäuren mit radioaktiven Isotopen von Kohlenstoff und Stickstoff verfüttert wurden, daß sogar die Aminosäuren der das plasmatische Eiweiß aufbauenden Polypeptidketten immerzu ausgetauscht werden.

Im Stoffwechsel gehen mit abbauenden Vorgängen aufbauende Hand in Hand, ohne daß hiervon die plasmatische Organisation selbst betroffen wird. Zwar hat man am Stoffwechsel vorwiegend dem Wechsel Beobachtung geschenkt. Das eigentlich Erstaunliche daran aber ist die Dauer im Wechsel. Die Eigenart des Geschehens kann man kaum besser zum Ausdruck bringen als mit dem von Goethe geprägten Begriff der „Wechseldauer“ (Faust II, V. 4722), den auch Schopenhauer im Auge hat, wenn er sagt: „Das Leben läßt sich definieren als der Zustand eines Körpers, darin er, unter beständigem Wechsel der Materie, seine ihm wesentliche (substantielle) Form allezeit behält“ (Parerga und Paralipomena, 2. Teil, Kap. VI, § 93). Will man sich eines allerdings in mehr als einer Hinsicht hinkenden Vergleiches bedienen, so mag man an die Kerzenflamme denken, die ihre Gestalt erhält und nur dadurch erhalten kann, daß die an der Peripherie verbrennenden Stoffe fortlaufend aus der Substanz der Kerze ersetzt werden. Mehr als eine entfernte Analogie zum Stoffwechsel der Zelle ist damit natürlich nicht gegeben, obwohl es sich in beiden Fällen um eine „Wechseldauer“ handelt.<sup>3</sup>

<sup>3</sup> Zur näheren Begründung vgl. man Schopenhauer a. a. O., wo mit einem Wasserfall exemplifiziert wird.

Die Wahrung der protoplasmatischen Strukturen im stetigen Austausch der Bausteine ist an die Voraussetzung geknüpft, daß die auf- und abbauenden Vorgänge streng geregelt verlaufen, d. h. wechselseitig aufeinander bezogen sind. Man spricht in dieser Hinsicht wohl auch von einer Funktionsharmonie (Wetzel 1940, S. 311). Als derart „geordnetes Geschehen zählt der Stoffwechsel zu den Kriterien des Lebendigen“ (Ohlmeyer 1948, S. 33).

Die Beziehung der Enzyme zum Stoffwechsel beruht auf ihrer Fähigkeit, bestimmte chemische Abläufe einzuleiten und zu beschleunigen; zudem verfügen sie über eine Eigenschaft, die man ihre Spezifität nennt. Man hat sie deshalb mit Schlüsseln verglichen (z. B. Frey-Wyssling 1949, S. 152). Wie nämlich ein Schlüssel stets nur zu dem zugehörigen Schloß paßt, so sind auch die Enzyme; sollen sie ihre spezifische Fähigkeit entfalten, auf ein bestimmtes Substrat angewiesen. Am besten bekannt sind ihre abbauenden Funktionen. Man unterscheidet danach unter anderem zwischen Eiweiß, Fett und Kohlhydrate spaltenden Enzymen. Die Spezifität geht aber noch viel weiter, wie das Beispiel etwa der den Abbau von Polysacchariden besorgenden Enzyme lehrt. Man denke an Stoffe wie Stärke oder Cellulose. Beide besitzen Kettenstruktur. Ihr enzymatischer Abbau besteht in der Auflösung dieser Ketten in die einzelnen, von Glucoseresten gebildeten Glieder. Trotz der sehr ähnlichen molekularen Struktur beider Stoffe nun ist das die Cellulose spaltende Enzym bei Stärke wirkungslos und umgekehrt. Besonders groß ist die Spezifität der eiweißspaltenden Enzyme, deren es ein ganzes Heer gibt.

Entscheidend ist nun die Feststellung, daß zum Verständnis des Stoffwechsels der Zelle die Kenntnis der Enzymwirkungen nicht ausreicht. Die Tätigkeit der Enzyme nach ihren aufbauenden und abbauenden Leistungen steht nämlich unter der Leitung des Ganzen, dem sie als „Elemente“ angehören. Nicht nur die Enzyme also steuern die von ihnen eingeleiteten Reaktionen; auch sie selbst unterliegen einer solchen Lenkung, die ganz allgemein in hemmenden Einflüssen besteht. Die Enzyme besitzen also keine „Handlungsfreiheit“ und können allemal erst in Funktion treten, wenn die ihrer Wirksamkeit entgegenstehenden Hemmungen aufgehoben werden.

Zur Verdeutlichung mag der Vergleich mit einer Orgel dienen. Sie wird bekanntlich von einem Luftreservoir aus betrieben. Die in ihm gespeicherte Luft wartet sozusagen darauf, in die Pfeifen strömen zu können. Zunächst ist sie daran durch Sperrvorrichtungen gehindert. Erst der Organist beseitigt diese Hemmung und bestimmt damit, daß er der Luft den Weg vorschreibt, den sie zu nehmen hat, auch die Art der von ihr erzeugten Töne. Werden die Tasten des Instrumentes allerdings regellos angeschlagen, so ist ein bloßer Lärm zu hören. Eine in Harmonie der Töne gründende Musik jedoch erklingt, wenn die Bedienung der Tasten nach einem vom Tonsetzer festgelegten Plan erfolgt.

Übertragen wir diese Überlegungen auf die Zelle, so entspricht den der Luftbewegung entgegenstehenden Hindernissen die Hemmung der Enzyme, die gleichsam bereitstehen und harmoniegerecht für den Fall funktionieren, daß ihre Entbindung planvoll geschieht.

Es muß also in der Zelle ein seiner Wirkung nach der Tätigkeit des

Organisten vergleichbares Etwas vorhanden sein, das die Enzyme geordnet in Funktion treten läßt und das grundlegende Phänomen der Kóordination hervorruft, das mit Worten von Bertalanffys (1942, S. 89) in dem „ganzheitlichen Zusammenspiel der fermentativen Reaktionen“ besteht. Dieses Etwas verhält sich jedenfalls dominant zu den einzelnen Enzymen und läßt sich als ein den Chemismus der Zelle überlagerndes Ordnungsprinzip kennzeichnen.

Daß dem so ist, lehren eindringlich die Erscheinungen der Autolyse, jene Auflösungsprozesse, die sich im Gefolge des Zelltodes einstellen. Sie sind ebenfalls enzymatisch bedingt, ja es sind dabei dieselben Enzyme wie im Stoffwechsel der lebenden Zellen wirksam. An der Enzymtätigkeit als solcher ändert sich also beim Zelltod nichts. Die Änderung betrifft die Koordination der Enzymwirkungen: an die Stelle des geordneten „Zusammenspiels“ tritt, wie Haehn (1936, S. 117) sich treffend ausdrückt, ein „willkürliches Spiel“ der Enzyme. Diese werden also aus den ihnen während des Zellebens auferlegten Bindungen entlassen, mit dem Ergebnis, daß sie nunmehr eine „wilde“ Tätigkeit entfalten, die in schnellem Tempo die Zerstörung des protoplasmatischen Gefüges herbeiführt. Die Zelle löst sich also tatsächlich selbst auf (Autolyse!) und dies auf Grund derselben enzymatischen Reaktionen, die im Leben, weil sinnvoll geleitet, ihrer Erhaltung dienen.

Was aber hat es mit dem die Steuerung der enzymatischen Tätigkeit besorgenden dominanten Ordnungsprinzip für eine nähere Bewandnis? Von Bertalanffy (1932, S. 92) spricht von der „strukturellen Ordnung“ der Fermentprozesse. Schulz und Husemann (1946, S. 279.f.) haben im Grunde dasselbe Phänomen im Auge, wenn sie auf „das ordnende Milieu des lebenden Organismus mit seiner vorgegebenen Feinstruktur“ hinweisen. Jedenfalls ist der Ablauf des fermentativ gesteuerten Stoffwechsels der Zelle an Strukturen gebunden, dies in einem Ausmaß, das es Ohlmeyer (1948, S. 33) erlaubte, den richtungsweisenden Satz aufzustellen, die Zukunft der Lehre vom Stoffwechsel hänge an der Morphologie. Wir stehen damit wiederum vor dem Problem der protoplasmatischen Organisation, von deren Wahrung also letzten Endes das Leben der Zelle abhängt. Mit ihrer Auflösung, der „Auflösung der Zellstruktur“ (Haehn 1936), tritt dagegen der Tod des Plasmas und in seiner Folge Autolyse ein.

### V. Eiweiß-Leben oder Zell-Leben?

Die Fülle der Irrtümer, mit denen die Frage nach dem Wesen der Zelle belastet ist, soll uns Anlaß sein, abschließend noch unter einem anderen Gesichtspunkt auf sie einzugehen. Wir knüpfen dabei an Ausführungen P. Jordans (1946, S. 248) an, in denen er den Begriff des „Eiweiß-Lebens“ einführt. Damit bringt er die Auffassung zum Ausdruck, daß das Phänomen des Lebens grundsätzlich schon mit der Existenz bloßer Eiweißmoleküle gegeben sei. Wir hätten es dann also mit „lebenden Molekülen“ zu tun. Und diese Konsequenz hat Jordan in seiner Schrift „Die Physik und das Geheimnis des organischen Lebens“ (1947, S. 52) wirklich gezogen. Man wird hierbei an E. Haeckel erinnert, der gelegentlich einer Begegnung mit



E. Fischer (1922, S. 138) äußerte: „Wenn Ihr Chemiker synthetisch das richtige Eiweiß macht, dann krabbelts auch.“

Zur Begründung könnte man auf die Tatsache hinweisen, daß die Eiweißstoffe im Aufbau der plasmatischen Substanz eine entscheidende Rolle spielen. Wie jedoch oben schon betont wurde, ist das Plasma stets mehr als ein Komplex von Eiweißmolekülen. Es gibt keinen Beleg für die Annahme, es könnten Eiweißstoffe für sich allein lebende Substanz bilden. Schon von Brücke (1861, S. 386) hat dies ausgesprochen, wenn er sagt: „wir nehmen diejenigen Erscheinungen, die wir als Lebenserscheinungen bezeichnen, am Eiweiße als solchem durchaus nicht wahr.“ An dieser Feststellung hat die Erweiterung unseres biologischen Wissens, die sich seither vollzogen hat, nichts geändert. „Eiweiß als solches“ ist also ein toter Stoff, dessen Moleküle sich trotz des hochgeordneten Zustandes, der sie auszeichnet, grundsätzlich in nichts von den Molekülen anorganischer Stoffe unterscheidet, was sinnfällig in ihrer Kristallisationsfähigkeit zum Ausdruck kommt. Überhaupt haben wir im seitherigen Gang der Forschung vom Eiweiß, auch wenn wir das „richtige“ noch nicht zu machen gelernt haben, doch genügend „erfahren, um zu wissen, daß es wahrscheinlich nicht krabbeln wird“ (Felix 1948, S. 231).

Damit ist auch das Urteil über die oft gehörte Ansicht gesprochen, das Gen sei die „letzte Einheit des Lebendigen“ (Mainx 1948, S. 90). Als Eiweißteilchen, um die es sich bei den Genen vermutlich handelt, können sie gar nicht selbst lebendig sein. Das Gen ist „genau so wenig lebend wie ein anderes Eiweißmolekül, wie ein Zuckermolekül, wie der Sauerstoff oder das Wasser“, sagt Bünning (1947, S. 16). Und Heberer (1948, S. 692) pflichtet ihm bei: „Hinsichtlich der häufig verwendeten Bezeichnung ‚Lebenseinheit‘ für die Gene muß man sich vor Augen halten, daß das Gen selbst nicht als lebend aufgefaßt werden kann, sondern das Leben ist erst das Produkt des Zusammenwirkens aller Teile des Systems, dem die Gene eingegliedert sind.“ Das Leben ist, so lautet ein von der Forschung in ihrem Fortschreiten stets erneut bestätigter Grundsatz der Biologie, eine Systemeigenschaft, und als solches ist es an die Zelle gebunden. „Der lebensfähige Elementarbestandteil des Lebens, der eigentliche Elementarorganismus, ist und bleibt die Zelle“ (M. Hartmann 1947, S. 25). Im übrigen trifft auf die Gene dasselbe zu, was schon von den Enzymen gesagt wurde und auch für andere Wirkstoffe gilt: sie „steuern die Geschehnisse nicht, sondern sie werden von etwas anderem dazu benutzt“ (C. Herbst, zitiert nach Bünning 1947, S. 12; vgl. außerdem Driesch 1937, S. 57!). Dieses Etwas ist ganz allgemein gegeben in dem, was die Belebtheit der Zelle ausmacht und als Novum gegenüber der anorganischen Welt die organismische Seinsschicht konstituiert.

Entscheidend ist in diesem Zusammenhang der Begriff der Wechselwirkung. Jene vermeintlichen Einheiten vollbringen also „das, was wir als Lebensprozesse bezeichnen, nur durch physikalische und chemische Wechselwirkungen mit anderen ebenso unerläßlichen Elementen“ (Bünning 1949, S. 159).

„Wechselwirkung aller Teile, von denen jedes für sich gleichwenig lebt, aber alle zusammen durch ihre Wechselwirkung das Leben ermöglichen“:



dies ist es, was in der Diskussion des Lebensproblems nie außer acht gelassen werden darf, wie Bünning (1943, S. 197) gegenüber den „die Öffentlichkeit irreführenden Fehlschlüssen“ (Bünning 1949, S. 159) verschiedener Physiker, voran P. Jordans, hervorzuheben nicht müde wird. „Wir sollten nicht von lebenden und toten Teilen, ‚lebenden Molekülen‘ und Ähnlichem sprechen, sondern mit dem Physiologen H. J. Jordan sagen: Das Problem der gesamten Biologie ist die Organisation, oder (wie J. S. Haldane immer wieder betonte) die Koordination“ (Bünning 1943, S. 197).

Es gibt also kein Eiweiß-Leben, sondern nur ein protoplasmatisches, und das heißt: ein Zell-Leben. Schon im Ansatz verkehrt ist deshalb auch die Frage, die Walter (1946, S. 26) aufwirft: „Wann ist zum Beispiel das Kohlenstoffatom, das die Pflanze mit der Kohlensäure der Luft aufnimmt, in ein Zuckermolekül einbaut, der Körpersubstanz einverleibt und bei der Atmung wieder als Kohlensäure abgibt, belebt und von welchem Augenblick an ist es wieder unbelebt?“ Das Leben beruht in keinem Falle auf einer vermeintlichen Belebtheit der am Aufbau des Plasmas beteiligten stofflichen Komponenten, seien es Kohlenstoffatome oder Eiweißmoleküle. Das Geheimnis des Lebens liegt vielmehr in der Frage beschlossen, „auf welche Weise alle Stoffe und Teilreaktionen quantitativ und zeitlich koordiniert werden, also zu jener Ordnung gelangen, die für Aufrechterhaltung des Lebens erforderlich ist“ (Ohlmeyer 1948, S. 33), das aber heißt in der erstmals durch von Brücke aufgeworfenen Frage nach der protoplasmatischen Organisation.

#### Literatur

- Bertalanffy, L. von, 1932: Theoretische Biologie, 1. Bd. Berlin.  
 — 1942: Theoretische Biologie, 2. Bd. Berlin.  
 Bogen, H. J., 1948: *Planta* 36, 298.  
 Brücke, E. von, 1861: Sitzungsber. K. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. 44, II. Abt. 381. Abgedruckt in der Sammlung „Ostwalds Klassiker der exakten Naturwissenschaften“, Nr. 95, S. 54.  
 Bünning, E., 1943: *Die Naturw.* 31, 194.  
 — 1947: *Studium generale* 1, 1. H., S. 10.  
 — 1949: *Fortschr. d. Bot.* 12, 158.  
 Driesch, H., 1937: *Acta Biotheoretica* 3, 51.  
 Felix, K., 1948: *Angew. Chem. A* 60, 231.  
 Fischer, E., 1922: *Aus meinem Leben*. Berlin.  
 Frey-Wyssling, A., 1938: *Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate*. Protoplasma-Monographien 15, Berlin. Neu bearbeitet unter dem Titel „Submicroscopic Morphology of Protoplasm and its Derivatives“ 1948 bei Elsevier Publishing Company New York-Amsterdam-London-Brüssel erschienen.  
 — K. Mühlethaler und R. W. G. Wyckoff, 1948: *Experientia* 4, 475.  
 — 1949: *Stoffwechsel der Pflanzen*. 2. Aufl. Zürich.  
 Friedrich-Freksa, H., 1948: *Naturforsch. u. Mediz. in Deutschland 1939—1946*, 21, 44. Wiesbaden.  
 Haeckel, E., 1917: *Kristallseelen*. Leipzig.  
 Haehn, H., 1936: *Autolyse*. In F. F. Nord und R. Weidenhagen, *Ergebnisse der Enzymforschung*, 5. Bd. Leipzig.  
 Hartmann, M., 1947: *Allgemeine Biologie*, 3. Aufl. Jena.

- Heberer, G., 1948: *Universitas* 3, 687.
- Jordan, P., 1946: *Universitas* 1, 244. Auch abgedruckt in „Die Natur — das Wunder Gottes im Lichte der modernen Forschung“, 5. Aufl., hrsg. von W. Dennert, S. 197 (Bonn 1950). Vgl. auch vom selben Verf.: *Das Bild der modernen Physik*, 2. Aufl., S. 61 (Hamburg-Bergedorf 1948).
- 1947: *Die Physik und das Geheimnis des organischen Lebens*, 5. Aufl. Braunschweig.
- Mainx, F., 1948: *Einführung in die Vererbungslehre*, Wien.
- Ohlmeier, P., 1948: *Angew. Chem.* A 60, 29.
- Pfeffer, W., 1897: *Pflanzenphysiologie*, 1. Bd. Leipzig.
- Reifenberg, B., 1946: *Die Gegenwart* (Freiburg i. Br.) 1, 20.
- Schrödinger, E., 1946: *Was ist Leben?* Bern.
- Schulz, G. V., und E. Husemann, 1946: *Z. f. Naturforsch.* 1, 268.
- Staudinger, H., 1946: *Universitas* 1, 853.
- 1947: *Makromolekulare Chemie und Biologie*. Basel.
- 1950. *Naturw. Rundschau* (Stuttg.) 3, 201.
- Teichmann, E., und L. Rhumbler, 1935: *Handwörterbuch d. Naturwiss.*, 2. Aufl. 10, S. 110.
- Timoféeff-Ressovsky, N. W., und K. G. Zimmer, 1947: *Biophysik*, Bd. 1: *Das Trefferprinzip in der Biologie*. Leipzig.
- Walter, H., 1946: *Die Grundlagen des Pflanzenlebens*. Stuttgart.
- Wetzel, K., 1940: *Grundriß der allgemeinen Botanik*. Berlin.

# Mikrodynamische Untersuchungen an der lebenden Zelle von *Actinosphaerium eichhorni* Ehrbg., unter Änderung des Zeitmomentes

(Zeitrafferlaufbild- und Teilbildanalyse)

Von

**Willi Kuhl**

(Unter Mitarbeit von Gertrud Kuhl)

(Aus dem Institut für Kinematische Zellforschung in Frankfurt a. M.)

Mit 22 Textabbildungen

(Eingelangt am 15. Mai 1951)

Inhaltsverzeichnis	Seite
Einleitung . . . . .	555
I. Untersuchungstechnik . . . . .	556
II. Allgemeines über die Cytoplasmastrukturen der lebenden Zelle von <i>Actinosphaerium</i> . . . . .	557
1. Beobachtungen bei normalem Zeitmoment . . . . .	557
2. Beobachtungen unter Zeitraffung . . . . .	560
III. Normale Funktionen und Lebensphasen von <i>Actinosphaerium</i> im Hinblick auf die Mikrodynamik des Cytoplasma . . . . .	561
1. Die Bewegung mit Ortsveränderung . . . . .	561
2. Kontraktile und Nahrungsvakuolen . . . . .	590
3. Aufnahme eines Beuteobjektes . . . . .	595
4. Defäkation . . . . .	604
IV. Zusammenfassung . . . . .	612
Literatur . . . . .	613

## Einleitung

Das Arbeitsprinzip der kinematischen Zellforschung, durch günstige, langfristige Filmaufnahmen gut aushaltende lebende Zellen mit Hilfe des Mikrozeitraffer-Films planmäßig „abzutasten“ und möglichst viele Lebensvorgänge unter Änderung unseres angeborenen „Zeitmomentes“ ( $= 1/16$  Sekunde) zu beobachten, die uns infolge ihres zu langsamen Ablaufes mit den gewöhnlichen Untersuchungsmitteln unzugänglich sind, hat sich bei *Actinosphaerium eichhorni* Ehrbg. als sehr fruchtbar erwiesen. Dieses Heliozoon erfüllt nahezu sämtliche Vorbedingungen für die hier angewandte Methode: Durchsichtigkeit, Unempfindlichkeit gegen den ständigen Wechsel von Hell und Dunkel bei der Mikrozeitraffer-Filmauf-

nahme, gegen Druck und gegenüber Vitalfarbstoff (Neutralrot); ferner zeichnet es sich durch ein unerwartet großes Restitutionsvermögen und vor allem eine relativ geringe Eigenbeweglichkeit aus, die bei einfacher, subjektiver Beobachtung überhaupt nicht wahrgenommen werden kann.

Die Beschleunigung eines sehr langsamen Vorganges mittels des Zeitrafferfilms erscheint uns als dringend zu fordernde Ergänzung zur üblichen einfachen mikroskopischen Beobachtung, durch die lediglich räumliche Komponenten abgeändert werden. Kleine und kleinste Veränderungen in der „Zeit“ bringt uns erst die „Zeitraffung“ zur Anschauung: wir kommen zu einer mikrodynamischen Untersuchungsweise der lebenden Zelle und ihrer Organelle und finden meist Bewegung, wo bei normalem Zeitmoment scheinbar Ruhe vorliegt. In bezug auf die eigenartige Sonderung des Cytoplasma von *Actinosphaerium* in „grobwabiges“ Ekto- und feiner granuliertes Entoplasma wird diese meist erfüllte Erwartung allerdings enttäuscht.

Um so größere Überraschungen bietet uns die Anwendung des Mikrozeitraffer-Films bei der Untersuchung der sehr langsam ablaufenden Lebensvorgänge dieses Einzellars.

Bei der Benennung der Strukturen des lebenden Ektoplasma werden folgende Bezeichnungen verwandt: „Flüssigkeitsvakuolen“ = „Flüssigkeitsalveolen“, Vakuolen- oder Alveolenwände; kontraktile Vakuolen.

Die den Zeitrafferfilmaufnahmen entnommenen „Teilbilder“ geben selbstverständlich nur „Phasen“ der untersuchten Vorgänge; sie können den dynamischen Eindruck des Zeitrafferlaufbildes nur sehr unvollkommen ersetzen.

*Actinosphaerium eichhorni* Ehrbg. erscheint durch die hier und in späteren Untersuchungen mittels neuer Methodik (vor allem der „Teilbildanalyse“ [W. Kuhl]) gewonnenen Beobachtungen und Versuchsergebnisse noch mehr als bisher als ein ganz ausgezeichnetes Versuchsobjekt für Cytoplasmastudien<sup>1</sup>.

### I. Untersuchungstechnik

*Actinosphaerium eichhorni* Ehrbg. ist in der Umgebung von Frankfurt am Main sehr selten. Bei einer Exkursion im April 1943 in das Naturschutzgebiet „Enkheimer Ried“ bei Frankfurt wurde eine Bodenprobe eines völlig ausgetrockneten, sandigen, flachen Tümpels in der Nähe des Rieds mitgenommen und im Laboratorium in einem Aquarium mit Leitungswasser „angesetzt“. Bereits nach 14 Tagen trat *Actinosphaerium* in großen Massen auf, nahezu in einer Reinkultur. Sehr viele Plasmogamien wurden in diesem etwa 30 × 20 × 30 cm messenden Aquarium beobachtet. Die Tiere hielten sich bis zum Spätherbst. Der Standort des Beckens wurde nicht verändert. Die Lebenduntersuchung der Tiere erfolgte in filtriertem Wasser ihres Aquarium. Für die Zeitrafferfilmaufnahmen erhielten die Deckgläser kleine Paraffinfüßchen an den vier Ecken und zwei bis drei weitere auf der Fläche verteilt, um ein Absinken und Durchbiegen größerer Deckgläser zu vermeiden. Bei langfristigen Aufnahmen wurden drei Seiten des Deckglases mit Paraffin umrandet; die vierte, freie Seite erhielt einen großen Wassertropfen, der

<sup>1</sup> Das dieser und zwei folgenden Arbeiten zugrunde liegende Zeitrafferfilmmaterial wird als Hochschulfilm über *Actinosphaerium* erscheinen.

nur sehr langsam verdunstet und erneuert werden kann, ohne daß Strömungen im Präparat entstehen, durch die das Aufnahmeobjekt verlagert wird. Für Übersichtsaufnahmen mit schwacher Vergrößerung (Summare) wurden Glasringpräparate verwandt mit etwa 3,5 mm hohem, mit Paraffin aufgeklebtem, plangeschliffenem Glasring von 16 mm innerem Durchmesser.

Über die bei den Zeitrafferfilmaufnahmen eingestellten Beschleunigungswerte geben die Erklärungen der Abbildungen Auskunft.

Die Auswertung der Mikrozeitraffer-Filme über die Beobachtung des Laufbildes hinaus erfolgte mit Hilfe der Methodik der „Teilbildanalyse“ (s. Kuhl 1937, 1942 und 1949) und den hierfür entwickelten Geräten. Sämtliche Photographien sind Teilbilder aus Mikrozeitraffer-Filmaufnahmen nach dem lebenden Objekt.

## II. Allgemeines über die Cytoplasmastrukturen der lebenden Zelle von *Actinosphaerium*

### 1. Beobachtungen bei normalem Zeitmoment

Schüttelt man eine geringe Menge Seifenwassers in einer Flasche, so ist bald der ganze Hohlraum mit einem groben Wabenwerk gegeneinander abgeplatteter Luftkammern erfüllt, deren Wandungen aus sehr dünnen Seifenlamellen bestehen. Die Bütschlischen Ölseifen-

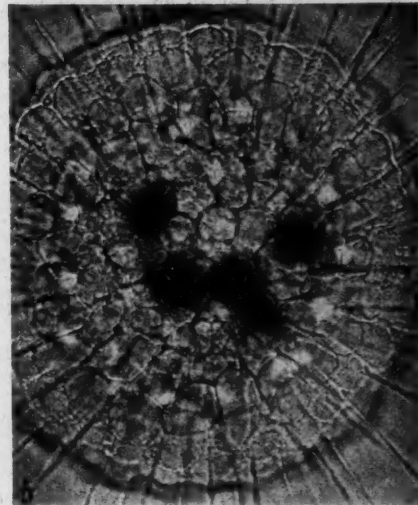
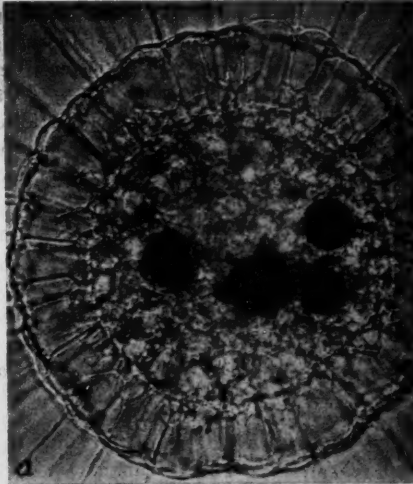


Abb. 1. a: *Actinosphaerium eichhorni* im optischen Schnitt. Im grob-vakuolisierten Ektoplasma reichen die meisten „Alveolen“ bis zur Grenze Ekto-Entoplasma. Vorwölbung der ektoplastischen Flüssigkeitsvakuolen nach außen. Vier mittelgroße Nahrungsvakuolen.

b: Das gleiche Tier bei Oberflächeneinstellung. Polygonale Abflachung der aneinandergepreßten ektoplastischen Alveolen. Kerne als unscharfe helle Stellen im Entoplasma erkennbar. Aus einer Mikrozeitraffer-Filmaufnahme. Teilstrich = 100  $\mu$ .

schäume geben ein noch getreueres „Abbild“ der großen, flüssigkeitsgefüllten „Vakuolen“ im Ektoplasma von *Actinosphaerium* mit ihren ebenen, vielgestaltigen und in mannigfachen Winkeln aneinanderstoßenden plasmatischen Trennungswänden. Nur ist die Dicke der Wände der Flüssigkeitsvakuolen verschieden von den angegebenen Beispielen bzw. Modellen.

In den Flüssigkeitsvakuolen des Ektoplasma beobachtet man häufig, vor allem bei jüngeren Tieren, kleine, dunkle Granulaanhäufungen, regellos verteilt oder auch klumpig geballt. Meist zeigen diese Granula keinerlei Brownsche Bewegung; erst unter Zeitraffung wird eine tanzende Bewegung der kleinen Körnchen sichtbar. Diese Beobachtung spricht für eine höhere Viskosität der Vakuolenflüssigkeit als Wasser. Nur in einem Falle wurde bei einem jungen Tier bei subjektiver Beobachtung Brownsche Bewegung dieser Granula unbekannter Herkunft mit großer Deutlichkeit festgestellt.

Je jünger und kleiner ein *Actinosphaerium* ist, um so höher und mächtiger ist die Rindenschicht, das Ektoplasma. Die Flüssigkeitsalveolen reichen in dieser Lebensphase meist von der äußeren „Grenzschicht“ des Tieres (Pellicula) bis zur Marksicht, dem Entoplasma (Abb. 1 a). Bei großen Tieren mit relativ niedrigem Ektoplasma können ebenfalls einzelne Flüssigkeitsalveolen die ganze Rindenschicht durchsetzen; ihre inneren, an andere „Vakuolen“ grenzenden Plasmawände stehen dann radiär, sofern sie nicht durch Verklüftung mit benachbarten, kleineren Vakuolen in eine mehr tangential Richtung abgedrängt werden.

Die „Spannung“ in den lebenden plasmatischen Wänden ist offenbar recht erheblich; wird doch die „Pellicula“ von den innen an sie stoßenden Flüssigkeitskammerchen nach außen vorgewölbt, so daß der Außenkontur eines *Actinosphaerium* sich aus einer Summe von Kreisanteilen mit verschiedenen Radien zusammensetzt (Abb. 1 a). Je schmaler eine an die Innen-seite der Pellicula anstoßende Flüssigkeitsvakuole ist, um so kleiner ist der Radius des vorgewölbten „Pelliculaanteiles“. Nach Gruber (1886) weist der Rhizopodenkörper keine „Cuticula“ auf; die „nackte“ Oberfläche „erstarrt“ jedoch infolge der Berührung mit dem Wasser, wodurch ein Zerfließen verhindert wird. Bei künstlichen Eingriffen wird durch dieses „Erstarren“ sofort ein Verschuß der Wundstelle bewirkt. (Statt „Cuticula“ muß sinngemäß jetzt Pellicula gesetzt werden.)

Der Begriff „Pellicula“ ist bei den Heliozoen mit Vorsicht anzuwenden. Bei *Actinosphaerium* ist mit den üblichen Mitteln der Lebend-Mikroskopie optisch eine Pellicula wohl kaum nachweisbar: der Zellkörper scheint nach dem Außenmedium zu durch die distalen Anteile der mehr oder weniger nach außen gewölbten Plasmawände der ektoplasmatischen Flüssigkeitsvakuolen abgegrenzt. Meist setzt sich — auf dem optischen Schnitt — der Außenkontur des Tieres noch aus diesen sehr flach gewölbten plasmatischen Begrenzungen der Flüssigkeitsvakuolen zusammen, die in ihrer Gesamtheit einem glatten Kreise recht nahe kommen. Wir müssen annehmen, daß diese distalen Anteile ein euplasmatiches (d. h. einschmelzbares) chemisch-physikalisch gegenüber dem restlichen Ektoplasma verändertes „Oberflächenhäutchen“ aufweisen (auch „Haptogenmembran“ genannt), das härter gelatinisiert ist als das übrige, die Wände der Flüssigkeitsvakuolen bildende Ektoplasma.



Bei subjektiver Beobachtung lassen sich keine Lageveränderungen der plasmatischen Wände der Alveolen im Ektoplasma feststellen.

Bei *Actinosphaerium* weist das Ektoplasma infolge seines grobvakuolisierten Baues wohl die schärfste Abgrenzung gegenüber dem Entoplasma auf. Die „Grenzschicht“ Ekto-Entoplasma, d. h. die am ungeschädigten lebenden Objekt im durchfallenden Licht optisch erkennbare „Grenzstruktur“ wird im wesentlichen wohl bedingt durch die proximalen Anteile der ektoplastischen Vakuolenwände. Auch im Bezirk dieser „Struktur“ können diese Vakuolenwände gewölbt erscheinen, jedoch nicht in dem Ausmaße wie in der Zone der Pellicula zwischen den Axopodien.

Die grobvakuolisierte Struktur des Ektoplasma gestattet hier keinen „Ekto-Entoplasma-Prozeß“ (Rhumbler), also einen funktionell bedingten dauernden Überführungsvorgang von Ekto- in Entoplasma und umgekehrt, wie bei anderen Rhizopoden (z. B. Amöben). Die in den Abbildungen der Lehrbücher meist überdeutlich dargestellten Achsenfäden in den Axopodien sind im Leben nie derart scharf vom Außenplasma der Pseudopodien abgesetzt; auch ist das Entoplasma meist so dicht granuliert, daß die „Verankerung“ der Achsenfäden in ihm nur selten zu beobachten ist, wenigstens bei dem hier vorliegenden Material. Die Körnchenströmung in den Axopodien ist ohne starke Vergrößerung und Zeitraffung kaum zu erkennen; die Körnchen können durch Vitalfärbung mit Neutralrot wesentlich deutlicher dargestellt werden.

Strömungen sind im Entoplasma bei subjektiver Beobachtung nicht wahrzunehmen. Eine Darstellung der Struktur des Entoplasma in „Wabenform“, wie man sie oft in Lehrbuchabbildungen vorfindet, entspricht am lebenden Objekt nicht den Tatsachen. Diese Bilder entstammen der Zeit der Alleinherrschaft der „Wabentheorie“ des Protoplasma und sind durch sie und durch „Strukturen“, wie sie am fixierten und gefärbten Objekt auftreten können, suggestiv beeinflusst (Abb. 1 a).

Die zahlreichen Zellkerne der „polyenergiden“ Zelle von *Actinosphaerium* sind nur bei Tieren mit wenigen Nahrungsvakuolen im Entoplasma bei sorgfältigem Fokussieren schwach sichtbar (Abb. 1 b). Bei Pressung der Tiere werden sie deutlicher.

Folgende Vorgänge sind ohne Änderung des Zeitmomentes am lebenden *Actinosphaerium* gerade eben erkennbar:

1. Stellt man ein *Actinosphaerium* (ohne Pressung durch das Deckglas) genau in die Mitte des Gesichtsfeldes ein, und zwar nach Abklingen der Axopodienstörung infolge der Präparatherstellung, so beobachtet man, daß das Tier sehr langsam aus dem Gesichtsfeld gleitet, ohne daß eine Drehung erfolgt. An der Lage der Nahrungsvakuolen zueinander läßt sich sehr leicht ermitteln, daß die strahlige Kugel keine — subjektiv sichtbare — Rotation erfährt.

2. Entleerung und langsame Auffüllung der kontraktilen Vakuolen.

3. Nahrungsaufnahme und Defäkation.

4. Sehr langsame Bewegung von Körnchen auf den Axopodien.

Alle diese langsamen Bewegungsvorgänge, außer der Entleerung der kontraktilen Vakuole, werden zweckmäßigerweise unter Zeitraffung untersucht.

## 2. Beobachtungen unter Zeitraffung

Die begriffliche Erwartung, daß eine Filmaufnahme unter Zeitraffung bei *Actinosphaerium* dynamische Vorgänge im grobvakuoalisierten Ektoplasma dieses Einzellers enthüllen würde, wird nicht erfüllt. Selbst eine 240fache Geschwindigkeit zeigt immer noch eine völlige Orts- und Formkonstanz der plasmatischen Wände der Alveolen. Daß die Anordnung der lebenden Trennungsschichten zwischen den Flüssigkeitskammerchen im Laufe des individuellen Lebens eines *Actinosphaerium* Änderungen und Umlagerungen erfährt, dürfte sicher sein. Um diese gegebenenfalls sichtbar zu machen, ist eine erheblich stärkere Zeitraffung erforderlich, die anzuwenden leider nicht möglich ist, weil als unliebsame Nebenerscheinung die gleitende Eigenbewegung der Tiere unerträglich beschleunigt dargestellt wird: das Tier verschwindet ständig aus dem Bildfeld und muß mittels des Kreutztisches wieder „hereingeholt“ werden. Das Zeitrafferlaufbild wird dadurch derart unruhig, daß eine Beobachtung oder gar Teilbildanalyse der Änderungen der Struktur des Ektoplasmas unmöglich ist. Wir müssen uns also mit der Tatsache bescheiden, daß die Flüssigkeitsalveolen im Ektoplasma unter normalen Bedingungen erstaunlich formkonstant sind. (Mechanische Beeinflussungen des Cytoplasma von *Actinosphaerium* und ihre Wirkung auf die Zellstruktur werden an anderer Stelle mitgeteilt.)

Eine Zeitrafferfilmaufnahme mäßiger und stärkerer Raffung läßt am experimentell unberührten Tier die Beobachtung zu, auf welche Weise die langsame Eigenbewegung zustande kommt. Das relativ undurchsichtige Entoplasma erschwert die Beobachtung der Granulabewegung im Laufbild. In den so formbeständigen Wänden der ektoplasmatischen Alveolen sind nur sehr wenige Granula nachweisbar. Hat man bei einer Zeitrafferfilmaufnahme eines kugeligen *Actinosphaerium*, wie es meist der Fall sein wird, auf den optischen Schnitt, d. h. den größten Durchmesser der Kugel scharf eingestellt, so sind am Rande immer mehrere Horizonte von vorgewölbten Pelliculaanteilen der distalen Alveolen im Bereiche der Schärfentiefe (bei mittlerer Optik). Man sieht mehrere konzentrische Zonen von Außenwänden der Vakuolen stark verkürzt und am Rande der Zellkugel, direkt von der Kante (Abb. 1 a). Die wenigen Granula im Bereiche der plasmatischen Vakuolenwände erscheinen in der Randzone des Tieres daher dicht zusammengedrängt. Ihre unter Zeitraffung sichtbar werdende Bewegung wird daher hier sehr deutlich und erweckt im Laufbild fast den Eindruck eines „Flimmerns“ der Grenzzone des *Actinosphaerium* gegenüber dem Wasser.

Im grobvakuoalisierten Ektoplasma sind selbstverständlich keine Strömungen möglich. Auch in der dunkleren „Markschicht“, dem Entoplasma, werden keinerlei Strömungsbewegungen unter Zeitraffung sichtbar; auch die Nahrungsvakuolen werden nicht, wie z. B. bei Ciliaten (*Paramecium*), im Entoplasma in mehr oder weniger festgelegten Bahnen bis zur Ausstoßung

der unbrauchbaren Reste umherbewegt. Die passiven Bewegungen dieser Nahrungsvakuolen erfolgen jedenfalls derart langsam, daß sogar eine 240fache Geschwindigkeit nicht ausreicht, sie sichtbar zu machen. Erst bei der Defäkation (III, 4; Abb. 22 a—l) werden Bewegungsvorgänge an den Nahrungsvakuolen erkennbar, oder nach einer erfolgten Plasmogamie bei der Verschmelzung sehr großer Nahrungsvakuolen zu einer Riesenvakuole.

### III. Normale Funktionen und Lebensphasen von *Actinosphaerium* im Hinblick auf die Mikrodynamik des Cytoplasma

Den folgenden Ausführungen liegt ein Teil von insgesamt 28 Mikrozeitraffer-Filmaufnahmen über *Actinosphaerium eichhorni* Ehrbg. zugrunde. Die Auswertung erfolgte 1. durch sehr häufiges Beobachten des Laufbildes (mehrere Beobachter!); 2. durch das Hilfsmittel der Teilbildanalyse. Die Beschleunigung der langsamen intrazellulären Bewegungsvorgänge im Laufbild schwankte innerhalb der Werte 50- bis 240fach. Nur bei Übersichts-Massenaufnahmen mit dem einfachen Mikroskop wurde eine 408fache Geschwindigkeit gewählt. Da die Tiere in ihrem natürlichen Biotop starken Helligkeitswerten und oft auch starker Erwärmung des Wassers in den Tümpeln ausgesetzt sind, wurden selbst langfristige Zeitrafferfilmaufnahmen ausnahmslos sehr gut vertragen.

#### 1. Die Bewegung mit Ortsveränderung

Der Mikrozeitraffer-Film enthüllt bei schwacher Vergrößerung die sehr merkwürdigen Bewegungen der Tiere aufeinander zu, voneinander fort und, bei der Plasmogamie, in einer Art „Spirale“ umeinander. Der Gesamteindruck im Zeitrafferlaufbild ist ebenso unerwartet wie reizvoll und anmutig. Eine Reihe von Annäherungen führt zur Plasmogamie, der eine besondere Untersuchung gewidmet ist, und zwar weisen die „Partner“ oft recht beträchtliche Größenunterschiede auf. Andere Tiere nähern sich einem Mitinsassen des Mikroaquarium in kleinen Kurven, weichen wieder zurück, nähern sich erneut usw. in häufigem Wechsel (vgl. Abb. 3 a und b). Eine Rotation wurde bei schwacher Vergrößerung auch unter Zeitraffung nicht beobachtet; sie müßte leicht an der dabei unvermeidbaren „parallaktischen“ Verschiebung der Nahrungsvakuolen bzw. der dunkelbraunen Reste in ihnen festzustellen sein.

Erst nach sehr häufiger und genauer Beobachtung des Mikrozeitraffer-Laufbildes konnten an den Axopodien sehr geringfügige, zunächst völlig übersehene Bewegungen festgestellt werden, die für die Ortsbewegung der Actinosphaerien verantwortlich zu machen sind. Sie treten deutlich erst bei starker Zeitraffung (240fach) in Erscheinung.

Da jedes Teilbild eines Mikrozeitraffer-Films eine Zeitaufnahme mit u. U. mehreren Sekunden Belichtungszeit darstellt, so ist jedes dieser Teilbilder gestochen scharf (s. die Abbildungen dieser Arbeit!), im Gegensatz zu Mikrofilmaufnahmen mit normaler Geschwindigkeit. Man kann also in unserem Falle bis auf etwa 2 Meter an das Zeitrafferlaufbild auf dem Projektionsschirm herantreten, ohne daß sich eine Unschärfe störend bemerk-

bar macht. Die häufige Beobachtung des „gerafften“ Laufbildes aus geringer Entfernung ist zur Feststellung der Axopodienbewegungen unerlässlich.

Thompson (1942) faßt die Axopodien der *Heliozoen* als steife, geradlinige Fäden aus modifiziertem Protoplasma auf, über deren „Bildungskräfte“ nichts bekannt ist. Durch die Beschreibung ihrer Entwicklung als eine „radiale Polarisation“ der Zelle kommen wir dem Verständnis nicht näher. Nach Sprossung der rigiden cytoplasmatischen „filaments“ aus dem Zellkörper werden diese durch eine deutliche Oberfläche vom mehr flüssigen Oberflächenprotoplasma der Zelle getrennt, das allmählich an dem Faden „emporzukriechen“ beginnt. Ohne auf die mathematischen Ableitungen Thompsons hier einzugehen, sei seine Auffassung über den bei den Axopodien vorliegenden „einfachen Fall eines Gleichgewichts zwischen drei getrennten Oberflächenspannungen“ mitgeteilt. Es liegt vor 1. die Spannung zwischen dem Faden und dem angrenzenden Protoplasma, 2. zwischen dem Faden und dem angrenzenden Wasser und 3. zwischen dem Wasser und dem Protoplasma. Das Gleichgewicht soll erreicht werden, wenn der Berührungswinkel zwischen dem flüssigen Protoplasma und dem Axopodium ein bestimmtes Maß aufweist (eine Formel wird hierfür angegeben). Dieser Winkel ist sehr klein. Da die Oberflächenspannung des den Achsenfaden umgebenden Plasma „symmetrisch um den Faden verläuft, so wird dieser gleichmäßig in alle Richtungen gezogen; mit anderen Worten: der Faden wird dazu neigen, sich senkrecht zur Kugeloberfläche anzuordnen, d. h. direkt in radialer Richtung vom Zentrum nach außen strahlend“.

Angaben über die aktive Ortsbewegung der genauer untersuchten *Heliozoen* beziehen sich nur auf solche Ortsverlagerungen, die auch bei gewöhnlicher, subjektiver Beobachtung, also ohne Änderung des Zeitmomentes, sichtbar sind. Alle Übergänge von gerade eben wahrnehmbarer Lageveränderung bis zu einem schnellen „Rollen“ der Zelle werden erwähnt.

Brandt (1878) unterscheidet bei *Actinosphaerium eichhorni* ein Auf- und Niedersteigen und ein Seitwärtsschwimmen. Nach Köllicker (1849) soll bei *Actinophrys sol* das Absinken durch Kontraktion, das Aufsteigen durch Expansion des ganzen Tieres zustande kommen. Brandt (1878) stellte fest, daß bei der „Kontraktion“ von *Actinosphaerium* der Durchmesser um  $\frac{1}{12}$  oder sogar um  $\frac{1}{6}$  kleiner wird. Beim Aufsteigen wurde keine Bewegung beobachtet. Die „Expansion“ soll nicht die alleinige Ursache der Aufwärtsbewegung sein, da durch noch so große Wasseraufnahme das Tier nicht spezifisch leichter werden kann. Luftblasen wurden im Protoplasma nicht festgestellt; sie sollen sofort von der Vakuolenflüssigkeit aufgenommen werden. Das Emporsteigen könnte dadurch zustande kommen, daß die „Vakuolen mehr Gas aufnehmen, als das umgebende Wasser enthält“.

Penard (1899) untersuchte die Bewegungen von *Acanthocystis pectinata* genauer; das Tier soll sich mit Hilfe der am Boden befestigten Axopodien, wie an gespannten Seilen, vorwärtsziehen. Auch Rollbewegungen sollen vorkommen, wobei sich die seitlichen und hinteren Axopodien eines nach dem anderen vom Boden losreißen sollen; dabei bleiben sie aber immer rigide. Durch helles Licht soll die langsame Bewegung stark beschleunigt werden. Der eigene Durchmesser wird in einer Minute zehn- bis zwölfmal zurückgelegt. Auch bei *Actinophrys sol* stellte Penard fest, daß das sehr visköse Axopodienplasma zur Befestigung des Tieres auf dem Untergrund dient; auch bei dieser Art wird die Bewegung bei Beleuchtung schneller. Das Ektoplasma soll sich „hinten“ stärker vakuolisieren, so daß die Bewegungsrichtung mit einer gewissen Sicherheit vorausgesagt werden kann. Nach

und nach kommen, infolge des häufigen Richtungswechsels, sämtliche Axopodien in Tätigkeit; eine kreisende Bewegung kann längere Zeit andauern. *Actinophrys sol* kann freie Schwimmbewegungen ausführen; wie seitliche freie Schwimmbewegungen zustande kommen, ist ungeklärt.

Diese wenigen Beobachtungen aus dem Schrifttum werden hier ohne weitere Verarbeitung oder Kritik wiedergegeben, weil die hier mitgeteilten neuen Erkenntnisse mit einer völlig anderen Untersuchungsmethodik erhalten wurden.

Bei der hier angewandten Beobachtung von oben, unter Änderung des Zeitmomentes, kann nicht ohne weiteres festgestellt werden, ob das *Actinosphaerium* frei im Wasser schwebt oder eine mehr oder weniger starke Grundberührung aufweist. Raum für eine freie Bewegung war in jedem Mikroaquarium vorhanden. Bei Tieren, die eine langsame Ortsverlagerung im Zeitrafferlaufbild aufweisen, läßt sich bei starker Raffung an den Axopodien folgendes beobachten:

Ohne ihre gerade Gestalt sichtbar zu verändern, erkennt man eine hin- und hergehende Bewegung der Axopodien; der Winkel zwischen der Anfangs- und Endlage beträgt etwa 8–12°. Bei Tieren, die sich aus irgendwelchen Gründen schneller bewegen, wird der „Ausschlag“ wesentlich größer.

Zunächst läßt sich selbst nach sehr häufiger Beobachtung des Zeitrafferlaufbildes nicht mit Sicherheit sagen, ob die Axopodien in einer Ebene „schwingen“ (die vielleicht je nach der Richtung der Gesamtbewegung des Tieres verschieden eingestellt werden kann), oder ob vielleicht kreisende Bewegungen ausgeführt werden, wobei das starr bleibende Axopod einen Kegelmantel beschreibt. Wahrscheinlich kommen beide Bewegungsweisen und vielleicht noch wesentlich verwickeltere vor.

Bei der feineren mikrodynamischen Untersuchung der Ortsbewegung von *Actinosphaerium* ist also durch Anwendung des Zeitrafferfilms eine Art „Ruderbewegung“ der starren Axopodien einwandfrei im Laufbild festgestellt worden. Auf welche Weise diese Bewegung zustande kommt, ist zunächst der direkten Beobachtung im Laufbild nicht zugänglich; es können daher vorläufig nur Vermutungen hierüber angestellt werden.

Die bisherigen Beobachtungen am Zeitrafferlaufbild zeigen, daß die Axopodien bei ihren sehr langsamen Bewegungen ihre geradegestreckte Gestalt und ihren starren Habitus nicht verändern.

Es ergeben sich zwei Möglichkeiten für einen Erklärungsversuch der Axopodienbewegung:

1. Der frei in das Wasser ragende Anteil eines Axopods ist aktiv an der Bewegung beteiligt oder
2. er wird passiv bewegt.

Zu 1. Eine aktive Bewegung könnte in einer rhythmisch erfolgenden Verkürzung und Verlängerung des Axopods bestehen, die jedoch kaum zu einer Ortsverlagerung des Tieres, trotz Summierung an einer großen Zahl von Axopodien, führen würde, oder in einer abwechselnden Krümmung und Streckung (infolge einer nur schwer vorstellbaren Kontraktion und Dilatation des Plasma außerhalb des Achsenfadens). Ferner wäre denkbar, daß nur in der proximalen Zone des Axopods alternierender mehr oder weni-



ger einseitige Kontraktionen und Dilatationen stattfinden, ohne „Einschmelzung“ des Achsenfadens und unter Erhaltung der Rigidität des distalen Anteiles des Axopods. Derartige minutiöse Vorgänge konnten bisher auch nicht unter Zeitraffung beobachtet werden.

Zu 2. Eine passive Bewegung des freien Anteils des Axopods kann nur von den proximalen, im Ekto- und Entoplasma verankerten Teilen erfolgen. Hier lassen sich drei Mikroabschnitte unterscheiden: 1. Der Durchtritt des Axopods durch die „Pellicula“. 2. Der Durchtritt durch das Ektoplasma zwischen den Flüssigkeitsalveolen. 3. Die „Verankerung“ in der distalen Zone des Entoplasmas. Die Abschnitte 1 und 3 kommen wegen ihrer zu geringen Ausdehnung hier nicht in Frage, es bleibt also nur der zwischen den Alveolen im Ektoplasma verlaufende intrazelluläre Anteil der Axopodien als Sitz der Bewegungsimpulse übrig.

Aus zahlreichen anderen Beobachtungen an den Axopodien unter Zeitraffung ergab sich, daß bei bestimmten physiologischen Vorgängen, z. B. der Entleerung einer kontraktile Vakuole, infolge der mit der Ausstoßung der Flüssigkeit notwendigerweise verbundenen Verlagerung einiger Ektoplasma-Alveolen die zwischen diesen verschobenen Alveolen liegenden basalen Axopodienanteile gleichfalls mitverlagert werden. Dies wird durch die als Hebel wirkenden freien Axopodien in vergrößertem Maßstab angezeigt.

In einer anderen Arbeit über die Plasmogamie bei *Actinosphaerium* wird bei der Analyse „phobischen“ Verhaltens eine Zeitraffereinstellung bearbeitet, bei der man im Laufbild direkt das „Einschlagen“ vieler Axopodien in die Berührungszone zweier Tiere beobachten kann. Hier befindet sich die ektoplasmatische Alveolärstruktur in partieller „Einschmelzung“, und es besteht kein Zweifel darüber, daß viele Alveolen stark gegeneinander verlagert werden und dabei die starren, freien Axopodienanteile „mitnehmen“.

Hieraus und aus den an anderer Stelle mitgeteilten Ergebnissen von Zentrifugierungs- und Pressungsversuchen ist zu folgern, daß die freien Axopodien durch Verschiebungen der in ihrer Gestalt sehr konstanten Ektoplasma-Alveolen hebelartig gegeneinander bewegt werden können. Wenn diese Tatsache zunächst auch befremdlich erscheinen mag, so darf man beim vorsichtigen Versuch einer Analyse der Dynamik der sehr verwickelten aktiven Ortsbewegung der Actinosphaerien nicht vergessen, daß die Alveolenwände aus lebendem Ektoplasma bestehen. Trotz der Formkonstanz der Alveolen bleiben sie leicht verschieblich gegeneinander, wie in Abschnitt III, 4 bei der Cytodynamik der Defäkation deutlich gezeigt wird, und ebenso leicht können Verlagerungen wieder rückgängig gemacht und ausgeglichen werden.

Es erscheint als durchaus möglich, daß neben den passiven Bewegungen der freien Anteile der Axopodien auch eine aktive Mitwirkung der frei in das Wasser ragenden starren Gebilde in geringem Umfange stattfindet.

Ein Axopod von *Actinosphaerium eichhorni* stellt also einen zweiarmligen Hebel dar, dessen kürzerer Arm intrazellulär und dessen längerer frei ins



Wasser ragt. Der Bewegungsimpuls erfolgt dann durch Verlagerung der ektoplastischen Alveolen im Bereich des Durchtritts des Axopods durch das Ektoplasma. „Drehpunkt“ des Hebels ist die Durchtrittsstelle des Axopods durch die „verhärtete“ Grenzzone Ektoplasma—Wasser. Sollte diese funktionelle Deutung richtig sein, so muß gefordert werden, daß der in das Entoplasma hineinragende Anteil der Axopodien keinen starren Achsenfaden mehr aufweist bzw. daß dieser bei derartigen Bewegungen in die „Solphase“ übergeführt wird. (Es ist am lebenden Objekt nicht zu entscheiden, wie weit die Axopodien in das Entoplasma hineinreichen.)

Dieser Erklärungsversuch verschiebt das Problem der Axopodienbewegung auf die aktive Verlagerung der dem intrazellulären Axopodienanteil dicht benachbarten, ihm eng anliegenden Alveolen, und es entsteht die neue Frage, woher diese Alveolen ihre „Verschiebungsimpulse“ erhalten. Es wäre voreilig, hierüber heute schon hypothetische Vermutungen anzustellen.

Wenn es schon zur Zeit noch nicht möglich ist, die Bewegung eines einzelnen Axopods in allen Einzelheiten zu verstehen, wieviel schwieriger wird es sein, die Gesamtbewegung eines *Actinosphaerium* in einem Maße verständlich zu machen, daß aus den geringfügigen, im Zeitrafferlaufbild erkennbaren Einzelbewegungen die Richtung der Gesamtorbitsverlagerung vorausgesagt werden könnte. Es herrschen hier sehr verwickelte Korrelationen zwischen den langsamen „Ruderbewegungen“ der einzelnen Axopodien und der gerichteten Ortsbewegung der ganzen Zelle, bei der, wenigstens bei dem uns vorliegenden Zeitrafferfilmmaterial, keine Rotation der kugeligen Actinosphaerienzelle um irgendeine Achse bisher beobachtet werden konnte.

Es muß noch scharf unterschieden werden zwischen der aktiven Bewegung freischwebender Actinosphaerien und der Bewegung von Tieren, die den Untergrund berühren und mehr oder weniger auf den Spitzen der Axopodien ihrer „Unterseite“ schweben.

Brandt (1878) beobachtete bei frei im Wasser schwebenden Actinosphaerien, daß die Mehrzahl aller Axopodien oft nach einer Seite geneigt wurde; die kugelige Zelle drehte sich dabei langsam nach der anderen Seite. Die schnellste Umdrehung dauerte 12 Minuten. Die Frage, wie die Schiefstellung der Axopodien zustande kommt, bleibt offen.

Die Klärung der Unterschiede (der Bewegung von frei schwebenden Tieren und solchen, die den Untergrund berühren), die hier etwa obwalten, erfordert mehrere Mikrozeitraffer-Aufnahmen, die die Tiere von der Seite gesehen zeigen (technisch schwierig, aber gegebenenfalls mit dem von W. Kuhl abgeänderten Prismenrotator von W. und H. Seibert möglich).

So sehr auch eine genaue Teilbildanalyse der Gesamtbewegung sämtlicher Axopodien eines *Actinosphaerium*, das Bewegung aufweist, erwünscht ist, so sind doch die technischen Schwierigkeiten dieser messenden Untersuchung bisher hemmend im Wege gewesen.

Nach diesen Ausführungen über die Beteiligung der Axopodien an der Fortbewegung der Actinosphaerien werden nunmehr die der Teilbild-

analyse gut zugänglichen größeren Ortsverlagerungen der Tiere genauer behandelt.

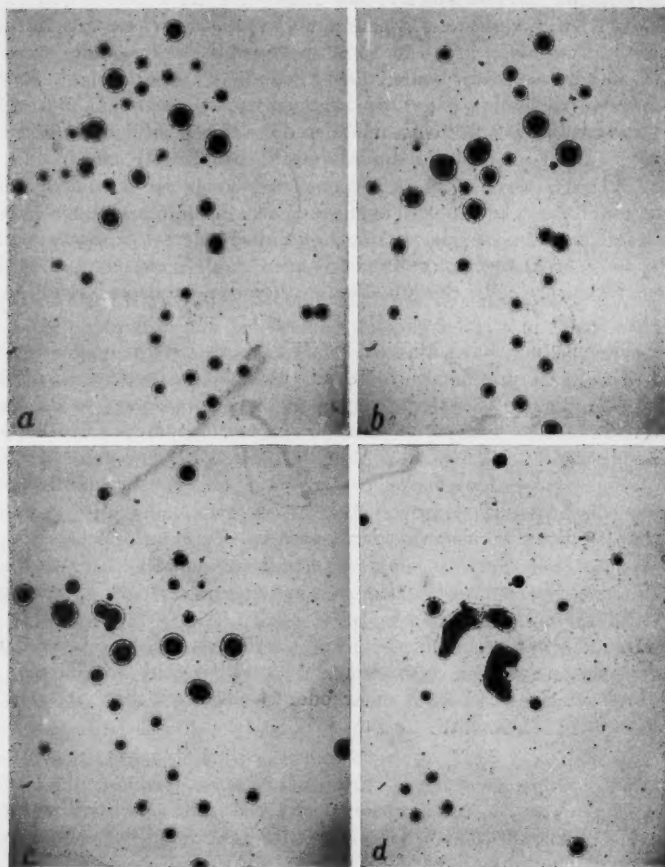


Abb. 2. Massenaufnahme von Actinosphaerien in vier Phasen (a—d) der Verringerung ihrer Anzahl infolge von Plasmogamien. Grundlage für die Teilbildanalyse der Abb. 5—9. Nähere Angaben im Text. Aus einer Mikrozeitraffer-Filmaufnahme.

Hiezu sind Zeitrafferfilmaufnahmen bei schwacher Vergrößerung erforderlich (in diesem Falle: Objektiv Elmar, 1:3,5; f: 5 cm in Umsteckfassung an Zwischenringen, also als „einfaches Mikroskop“ angewandt). Es wurden etwa 50 Tiere frisch aus dem Zuchtaquarium entnommen und in ein Glasringpräparat übertragen (Wasservolumen innerhalb des Glasringes: 700 mm<sup>3</sup>); der Glasring wurde mit Paraffin auf den Objektträger geklebt.

In Einstellung 63, Abb. 2 a, befinden sich 36 Actinosphaerien im Bildfeld, und zwar 7 große, 2 mittelgroße und 27 kleine. Eine beginnende Plasmogamie

gamie ist bei drei „Paaren“ festzustellen. Nach  $1^h 10^m$  ergibt sich eine Zuordnung der Tiere wie in Abb. 2b dargestellt: es sind noch 30 Tiere im Bildfeld, 5 große, 6 mittelgroße und 19 kleine. Ein Doppeltier befindet sich in der Phase beginnender Plasmogamie. Abb. 2c ( $1^h 26^m$  seit b) zeigt noch

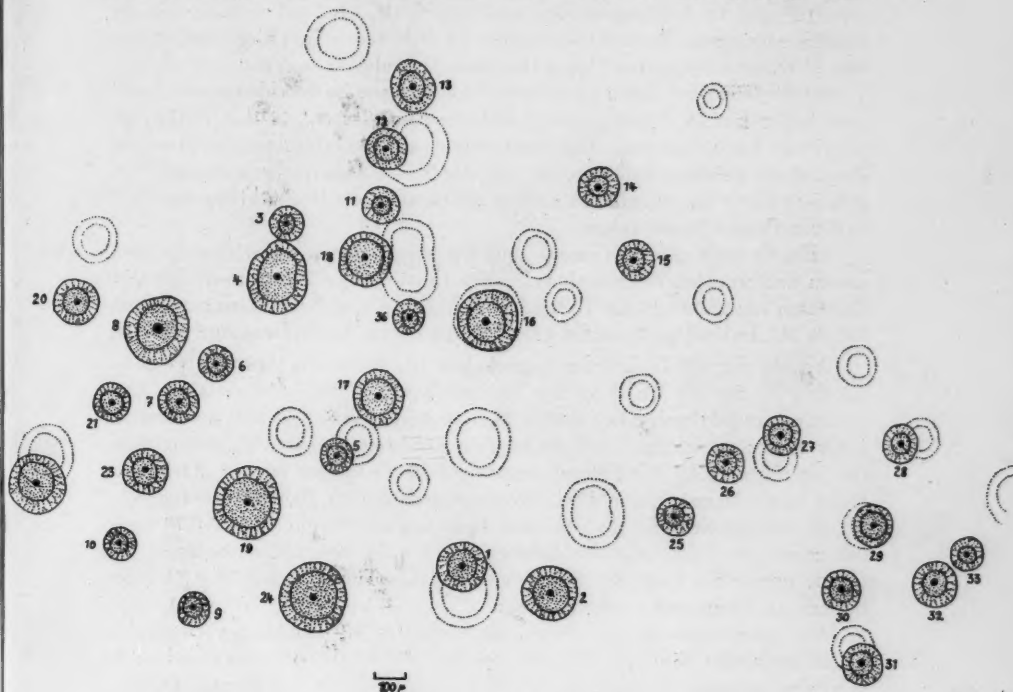


Abb. 3. a: 36 Actinosphaerien (Nr. 1–36) in Anfangslage (punktiert) und ihre zahlenmäßige Verminderung auf 24 innerhalb von  $2^h 50^m$  (= 400 Teilbilder). Endlage: nur punktierter Kontur. Axopodien nicht eingezeichnet. Das gleiche Tiermaterial wie in Abb. 2. Teilbildanalyse aus einem Mikrozeitraffer-Film. Teilstrich =  $100 \mu$ .

24 Actinosphaerien im Bildfeld, 5 große, 6 mittelgroße und 13 kleine. Ein Doppeltier läßt eine beinahe vollendete Plasmogamie erkennen.

Nach einem größeren Zeitintervall von  $13^h 10^m$  ist das Bild stark verändert (Abb. 2d). Es sind nur noch 15 Tiere im Bildfeld, darunter zwei sehr große Aggregate und 13 mittlere bis kleine Actinosphaerien. Das rechte große Aggregat krümmt sich ein und hat bereits U-Form angenommen; das linke fängt gerade mit der Einkrümmung an. An seinem rechten freien Ende wird noch eine Plasmogamie eingeleitet. Im Gesamtverlauf der Ein-

stellung 63 wurden sämtliche einmal eingeleiteten Plasmogamien bis zum Ende durchgeführt. Infolge von Totalverschmelzungen — Plasmogamien —, denen eine besondere Untersuchung gewidmet ist, wurde die ursprüngliche Anzahl von 36 Tieren in Abb. 2a demnach im Zeitraum 15<sup>h</sup> und 10<sup>m</sup> auf 15 Actinosphaerien und Aggregate, also auf weniger als die Hälfte, verringert. Beuteobjekte waren im Mikroaquarium nicht vorhanden, von „Fressgemeinschaften“ kann demnach nicht die Rede sein.

Da die Tiere bei ihren langsamen Bewegungen im beschleunigten Laufbild leider keine Spuren ihrer Bahnen hinterlassen, ist die Teilbildanalyse heranzuziehen. Die Besprechung der Abbildungen 3—19 ergibt deutlich, in welchem Umfange die aus der Teilbildanalyse gewonnenen Ergebnisse über die, wenn auch noch so oft wiederholte Beobachtung des Zeitrafferlaufbildes hinausgehen.

Abb. 3a zeigt die Anfangs- und Endlage der in ihren Bewegungen genau untersuchten Actinosphaerien der Einstellung 63, und zwar für den Zeitraum von 2<sup>h</sup> 50<sup>m</sup> (= 400 Teilbilder). In der Anfangslage (Tiere punktiert) liegen 36 „Individuen“ vor, in der Endlage (nur Umrißlinien) nur noch 24.

Was in der Zwischenzeit geschehen ist, kann aus Abb. 3b ersehen werden, in der die Bahnen der Actinosphaerien aufgezeichnet sind. Die Anfangslage ist durch einen dicken Mittelpunkt gekennzeichnet; der Kontur jedes Tieres in der Anfangslage ist fein punktiert dargestellt, desgleichen die jeweilige Höhe des Ektoplasma. Alle 20 Teilbilder ist ein „Ort“ der Bahn eingetragen; kleine Pfeilspitzen zwischen den Bahnpunkten geben die Bewegungsrichtung an. Je zwei Bahnpunkte liegen zeitlich 8,5<sup>m</sup> auseinander; der Endpunkt der Bewegung ist nicht besonders markiert. Es wurde immer die Lage des Mittelpunktes eines Tieres nach 8,5<sup>m</sup> = 20 Teilbildern als Bahnpunkt aufgezeichnet.

Der erste Eindruck des Bewegungsverlaufes ist zunächst verwirrend. Selbst nach sehr häufigem Ablaufe des Zeitrafferlaufbildes und nach möglichst genauer Beobachtung des Bewegungsablaufes würde man keinesfalls eine derartige Kompliziertheit der mit Hilfe der Teilbildanalyse ermittelten „Bahnen“ jedes Versuchstieres erwarten!

Bei der Analyse der Bewegungsbahnen einer größeren Anzahl von Actinosphaerien muß man berücksichtigen, daß nur die Ortsveränderungen in der Horizontalebene genau dargestellt werden können; die Bewegungskomponente senkrecht zum Beobachter — also in der optischen Achse des Mikroskops — kommt nicht maßstabsgetreu zur Darstellung. Bei Bewegungen nach unten oder nach oben, natürlich auch in schrägen Richtungen, müssen die zurückgelegten Wege mehr oder weniger stark verkürzt eingetragen werden, was auch bei der Deutung der aus Abb. 3b gewonnenen Weg-Zeit-Kurven (Abb. 7) zu berücksichtigen sein wird. Bewegungen in die Tiefe oder nach oben werden bei der Weg-Zeit-Kurve u. U. als Geschwindigkeitsverminderung in Erscheinung treten.

Auf den ersten Blick lassen sich kaum Gesetzmäßigkeiten in den Bahnen der Actinosphaerien erkennen. Es liegen Tiere vor mit sehr geringfügigen Ortsveränderungen (z. B. 20, 22, 27) und sehr erheblichen (z. B. 13, 25, 26, 51).

Die Tiere mit großen Lageänderungen kehren manchmal nach einer Schleifenbahn wieder nahezu an ihren Ausgangsort zurück (31).

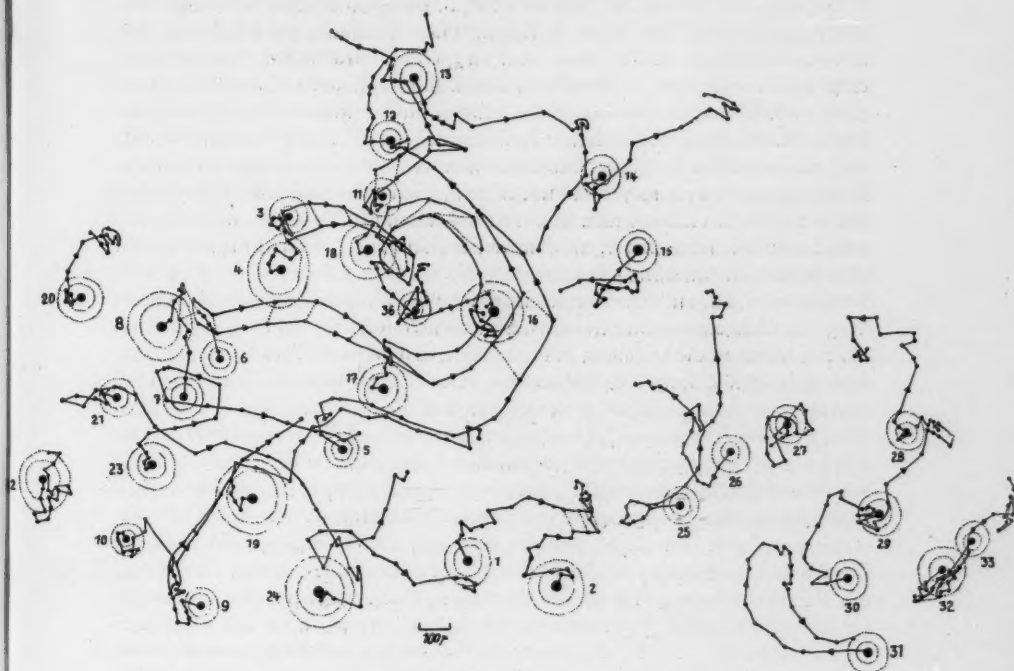


Abb. 3. b: Mit Hilfe der Teilbildanalyse aus der den Abb. 2 und 3 zugrunde liegenden Zeitrasterfilmaufnahme gewonnene Darstellung der Bahnen der 36 Actinosphaerien. „Spiralbahnen“ bei Plasmogamien. Anfangslage der Tiere in punktiertem Kontur dargestellt. Der Abstand der Kurvenpunkte entspricht einem Zeitraum von  $8,5^m$  (= 20 Teilbildern).  
Teilstrich =  $100 \mu$ .



Von besonderem Interesse ist die Verringerung der Anzahl der Einzeltiere infolge von Plasmogamien. Die „Bahnen“ dieser Tiere fallen meist deutlich aus dem unregelmäßigen Bahnverlauf der einzeln bleibenden Actinosphaerien heraus; es handelt sich hier um die bereits im beschleunigten Laufbild auffallenden „Spiralbewegungen“ zweier Plasmogamiepartner (Abb. 3b: 5, 6, 7, 8). Von den 36 „Pseudoindividuen“ der Anfangslage (Abb. 3a; 1–36, flächenhaft punktiert) sind gegen Versuchsende noch 24 als „Einzeltiere“ anzusprechen. Die fehlenden 12 haben infolge der Plasmogamien ihre „Individualität“ aufgegeben, sie sind in den restlichen 24 Tieren enthalten, was aus dem größeren Volumen

auch zu erkennen ist. Es treten innerhalb der Beobachtungszeit Mehrfach-Plasmogamien auf.

In Abb. 3b laufen die Bahnen von „Plasmogamietieren“ zunächst parallel, sobald zwei Tiere sich zu Beginn einer Plasmogamie berühren. Die Mittelpunktslagen solcher Tiere sind zu gleichen Beobachtungszeiten durch eine punktierte Linie verbunden. Die Bahnen der Mittelpunkte konvergieren allmählich im gleichen Maße, in dem die Verschmelzung fortschreitet. Ist die Abkuglung vollendet, so treffen sich beide Bahnen in einem Punkte und eine einzelne Linie kennzeichnet den weiteren Bewegungsverlauf des Doppeltieres (bzw. seines nunmehrigen Mittelpunktes). Man beobachtet die harmonisch verlaufenden gekurvten Bahnen von 5, 6, 7 und 8. Nr. 6, 7 und 8 verschmelzen zuerst; zu dem neuentstandenen „Dreiertier“ gesellt sich dann nach der Abkuglung noch 5. Nr. 6, 7 und 8 liegen anfänglich nahe beieinander; bis zu ihrer Verschmelzung werden daher keine erheblichen Wege zurückgelegt. Das neuentstandene „Dreiertier“ [6, 7, 8] legt dann bis zur völligen Abkuglung  $800\mu$  zurück und bis zur Verschmelzung und Abkuglung mit 5 weitere  $700\mu$ . Das nunmehr vorliegende „Vierertier“ bewegt sich dann noch  $400\mu$  in der gleichen Kurvenform wie vorher fort. Die „Plasmogamiegruppe“ 5, 6, 7, 8 wandert demnach insgesamt  $1900\mu$ . Das zuletzt zur Dreiergruppe 6, 7, 8 stoßende *Actinosphaerium* 5 wandert bis zur Verschmelzung und Abkuglung mit dieser  $1650\mu$ . Im beschleunigten Lauffbild ist das bewegungsphysiologische Verhalten dieser vier Tiere besonders dadurch instruktiv, daß die Richtung der Bewegung und auch die Geschwindigkeit nach der die Plasmogamie einleitenden ersten Berührung der Partner nahezu gleich bleibt. Erst gegen Ende des Versuches nimmt die Geschwindigkeit des Vierfachtieres [5, 6, 7, 8] etwas ab (s. die Weg-Zeit-Kurve Abb. 7,  $5+6+7+8$ ) und seine Bewegungsrichtung weicht nach rechts ab.

Keineswegs sämtliche Plasmogamien finden unter derartigen erheblichen Ortsverlagerungen statt; z. B.  $1+2$ ,  $32+33$  und  $34+35$ . Im Versuch variiert der Bewegungsablauf während der Verschmelzungsvorgänge wohl ebenso stark wie der Bahnverlauf der Einzeltiere.

Extrem lange Wege werden von den folgenden einzeln bleibenden Tieren zurückgelegt: 21 ( $1840\mu$ ), 23 ( $1450\mu$ ), 19 ( $1380\mu$ ) und 31 ( $1240\mu$ ). Nahezu „auf der Stelle treten“: 22 ( $650\mu$ ) und 36 ( $450\mu$ ).

Bei dieser erstmaligen Darstellung der bei normalem Zeitmoment nicht zu beobachtenden Bewegungsweise von *Actinosphaerium* kann nicht erwartet werden, innere Gesetzmäßigkeiten aufzufinden, die die jeweilige Bahn eines einzelnen Tieres bestimmend beeinflussen. Die äußeren Bedingungen, soweit das Untersuchungsmedium, der zur Verfügung stehende Raum im Ringpräparat, die Temperatur,  $p_H$ , Belichtung usw. in Frage kommen, sind ja für sämtliche 36 Tiere des Versuches gleich. Verschieden ist die Anfangslage der Sonnentierchen zueinander im Mikroaquarium. Diese ist bekannt und aus Abb. 3a zu ersehen. Für die Ausföhrung der von jedem „Pseudoeindividueum“ wirklich zurückgelegten Wegstrecke ist der für uns noch nicht erkennbare jeweilige physiologische



Zustand der Zelle, die „Stimmung“ in der tierpsychologischen Nomenklatur, und auch wohl sicher der Einfluß (ganz allgemein gesprochen) mehr oder weniger nahe benachbarter Tiere maßgebend. Es ist zunächst noch nicht möglich, Aussagen über Art, Wirkung und zeitliche Gebundenheit dieses Einflusses zu machen.

Es scheint festzustehen, daß nur die von Plasmogamiepartnern ausgeführten Bahnen die geschilderte Spiralform zeigen. Welche Rolle die Anfangsentfernung spielt, ist noch nicht sicher. Nr. 34 und 35 z. B. liegen anfänglich nahe beieinander und berühren sich gerade. Es kommt eine Verschmelzung zustande, ohne daß eine Spiralbewegung auch nur angedeutet wäre. Beide „Partner“ bewegen sich nur auf der Stelle. 6, 7 und 8 liegen nahe zusammen ( $50-70\mu$ ); es kommt bald zur Vereinigung der drei Tiere, und noch während der Verschmelzungsvorgang im Gange ist, beginnt die beschriebene Spiralbahn. Das zunächst entfernt liegende Tier 5 gerät in die „Einflußzone“ der neuentstandenen Dreiergruppe, bewegt sich auf einer parallel verlaufenden Bahn und verschmilzt mit der Dreiergruppe. Nach Bildung dieser Vierergruppe nimmt zunächst die Bewegungstendenz keineswegs ab, die Bahnkurve behält ihre Spiralform fast bis zum Versuchsende bei. Alle vier *Actinosphaerien* sind physiologisch zur Plasmogamie „gestimmt“. (Bemerkt sei, daß sich im Glasringpräparat dieses Versuches kein Beuteobjekt irgendwelcher Art befand! Hungereinfluß ist auszuschalten, da die 36 Versuchstiere frisch aus dem Zuchtaquarium herausgefangen wurden.)

Die Form der Bahnen der Einzeltiere (der einzeln bleibenden *Actinosphaerien*) ist ungemein verschieden. Der Bahnverlauf ist im allgemeinen um so glatter, je länger der zurückgelegte Weg ist (13, 23, 31). Stark gebrochener Verlauf ist bei den „auf der Stelle tretenden“ Tieren festzustellen (15, 22, 27). Die Bahnaufzeichnung dieser Tiere (Darstellung der jeweiligen Lage des Mittelpunktes) dürfte relativ am stärksten mit Fehlern behaftet sein, da die innerhalb von  $8,5^m$  (= 20 Teilbilder = Zeit zwischen zwei registrierten Bahnpunkten) zurückgelegten Wege verhältnismäßig klein sind und die Vertikalbewegung ja nicht, wie oben gesagt, berücksichtigt werden kann.

Das verwirrende Bild der Bahnen macht es unmöglich, genaue Angaben darüber zu machen, ob irgendwelche Richtungen in der Horizontalebene von den Versuchstieren besonders bevorzugt wurde. Um hierüber Klarheit zu erhalten, wurde die Richtungsrosette, Abb. 4, aus der Bahndarstellung Abb. 3b gewonnen. Aus der Anordnung der Punkte in jedem  $22,5^\circ$  umfassenden Richtungssektor kann festgestellt werden, ob eine oder mehrere Richtungen von den sich aktiv bewegenden *Actinosphaerien* während der Versuchsdauer „bevorzugt“ wurden. Jeder Punkt bedeutet, daß in der Zeit von  $8,5^m$  (= 20 Teilbilder) diese Richtung von einem Tier eingeschlagen wurde (auf dem  $0^\circ$ - und  $90^\circ$ -Radius sind die Zeitintervalle von 20 zu 20 Teilbildern eingetragen; alle durch die Punkte dargestellten Richtungsänderungen, die zwischen zwei Kreisen liegen, sind also gleichzeitig [im Rahmen des Intervalls von 20 Teilbildern]). Der Augenschein lehrt, daß

die meisten Richtungsänderungen (60) im Richtungssektor  $67,5^{\circ}$ – $90^{\circ}$  liegen, daß überhaupt der Quadrant  $0^{\circ}$ – $90^{\circ}$  die meisten Richtungswechsel enthält.

Die graphische Darstellung Abb. 5 stellt die von den Tieren „bevorzugt“ eingeschlagenen Richtungen übersichtlich dar: 170mal wurde die Richtung

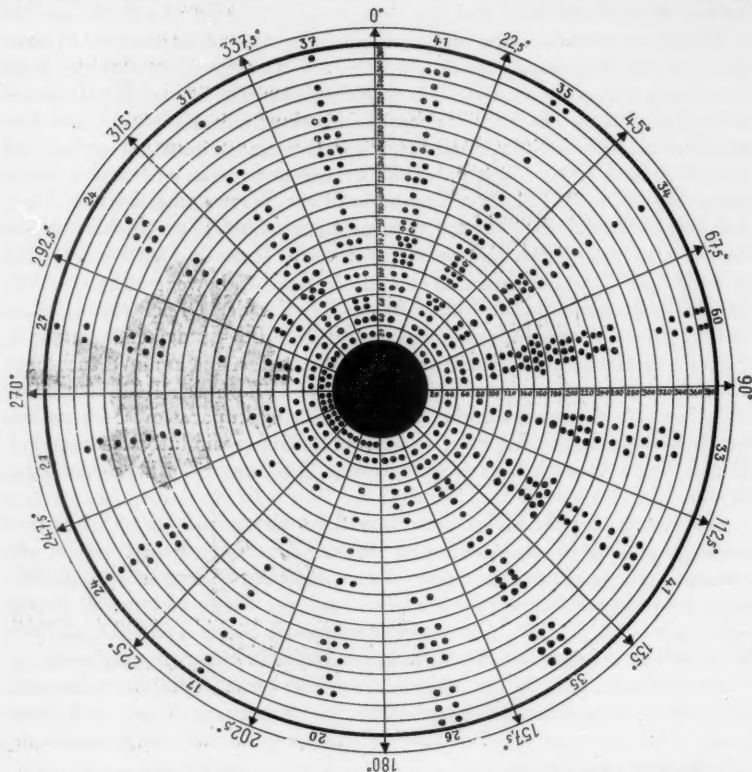


Abb. 4. Aus Abb. 3b gewonnene „Richtungsrosette“. Richtungssektoren von  $22,5^{\circ}$  zu  $22,5^{\circ}$ . Der Raum innerhalb zweier konzentrischer Kreise entspricht  $8,5^{\text{m}} = 20$  Teilbildern. Jeder Punkt gibt an, daß in dem betreffenden „Zeitrang“ in dem jeweiligen Richtungssektor diese Richtung von einem *Actinosphaerium* eingeschlagen wurde. Die „Richtungsrosette“ dient zur Feststellung, ob während der Versuchszeit eine oder mehrere Richtungen besonders bevorzugt werden; gerichtete Bewegung liegt nur begrenzt vor.

$0^{\circ}$ – $90^{\circ}$  eingeschlagen, 135mal  $90^{\circ}$ – $180^{\circ}$ , 82mal  $180^{\circ}$ – $270^{\circ}$  und 119mal  $270^{\circ}$ – $360^{\circ}$ . (Man stelle sich vor, daß man von oben auf das die Tiere enthaltende Glasringpräparat blickt, und man registriert, wie oft in dem technisch zweckmäßigen Zeitabschnitt von  $8,5^{\text{m}}$  bestimmte Richtungen — in Richtungsklassen von  $22,5^{\circ}$  eingeteilt — von den *Actinosphaerien* eingeschlagen werden. Dies wäre natürlich für einen subjektiv die sehr langsamen

Bewegungen wahrzunehmen sich anschickenden Beobachter unmöglich. Erst der Umweg über die Mikrozeitraffer-Filmaufnahme in Verbindung mit der Teilbildanalyse gestattet, dies genau durchzuführen.) Genauer ausgedrückt, wird ja nicht der Augenblick der Richtungsänderung durch einen Punkt dargestellt, sondern die Tatsache, daß eine bestimmte Bewegungsrichtung zu einer bestimmten Zeit von einer Zelle eingeschlagen wurde. Bleibt also die Anzahl der Tiere während der Versuchsdauer konstant, so müssen innerhalb der von zwei konzentrischen benachbarten Kreisen angedeuteten 20 Teilbildern =  $8,5^m$  immer die gleiche Anzahl von „Richtungspunkten“ auftreten. Infolge der Plasmogamien tritt jedoch eine Verringerung der anfänglichen 36 Actinosphaerien auf 24 ein; dies macht sich bemerkbar in der Abnahme der Punktzahl in den Zeitkreisen von innen nach außen. In den beiden äußeren Kreisfeldern (Teilbild 360 und 380) ist die Punktzahl geringer als erwartet, weil gegen Versuchsende die Wege der Zellen, besonders der einzelnen, „auf der Stelle tretenden“, oft sehr geringfügig und bei der Teilbildanalyse kaum ablesbar sind.

Abb. 6 zeigt die Verteilung der Häufigkeit der eingeschlagenen Richtungen in den „Zeitklassen“ (Teilbild 20–380 = 8,5–161,5. Minute) unter Zusammenfassung der  $22,5^\circ$ -Richtungssektoren in Quadranten. Diese Darstellung soll nur ein klares Bild der Verteilung geben, nicht aber eine biometrische Analyse, für die zahlenmäßig und inhaltlich die Voraussetzungen nicht gegeben sind.

Für das Richtungsfeld  $0^\circ$ – $90^\circ$  liegen die Richtungspunkte bei Teilbild 120–180 gedrängt. Im Quadranten  $90^\circ$ – $180^\circ$  bei Teilbild 200–240; bei  $180^\circ$ – $270^\circ$  auffallenderweise bei Teilbild 20 zu Versuchsbeginn und bei 280–320 gegen Versuchsende. Der vierte Quadrant,  $270^\circ$ – $360^\circ$ , wird zu Versuchsbeginn (Teilbild 20–100) wesentlich „bevorzugt“.

Aus Abb. 3b wurden endlich die Weg-Zeit-Kurven aller 36 Actinosphaerien konstruiert und in Abb. 7 dargestellt. Je größer der Winkel ist, den eine Kurve mit der Abszissenachse bildet, um so größer ist die Geschwindigkeit des betreffenden Tieres. Auffällig ist die fast gleiche Geschwindigkeit aller Tiere in der ersten Stunde des Versuches; anders verhält sich nur 31, das in den ersten  $8,5^m$  0,2 mm zurückgelegt, also mehr als das Doppelte aller übrigen Tiere in diesem Zeitraum; nur ein *Actinosphaerium*

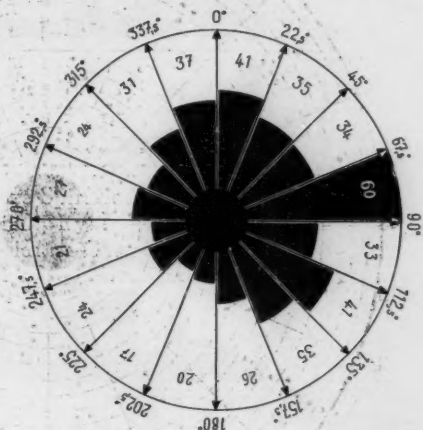


Abb. 5. Aus Abb. 4 gewonnene graphische Darstellung der „Häufigkeit“ der eingeschlagenen Richtungen in den Richtungssektoren. „Maximum“ bei  $67,5^\circ$ – $90^\circ$ .

erreicht eine Strecke von 0,1 mm. Die Geschwindigkeit von 31 läßt von Teilbild 20 ab nach und überschreitet nicht den durchschnittlichen Wert der übrigen Actinosphaerien.

Von Teilbild 140 ab (59,5<sup>te</sup> nach Aufnahmebeginn) ist eine Aufspaltung des Kurvenfeldes zu beobachten. Die höchsten Geschwindigkeitswerte erreicht die Plasmogamiegruppe 5, 6, 7, 8, die demgemäß auch den längsten Weg — über 2,1 mm — zurücklegt; Abb. 3b läßt die oben besprochene

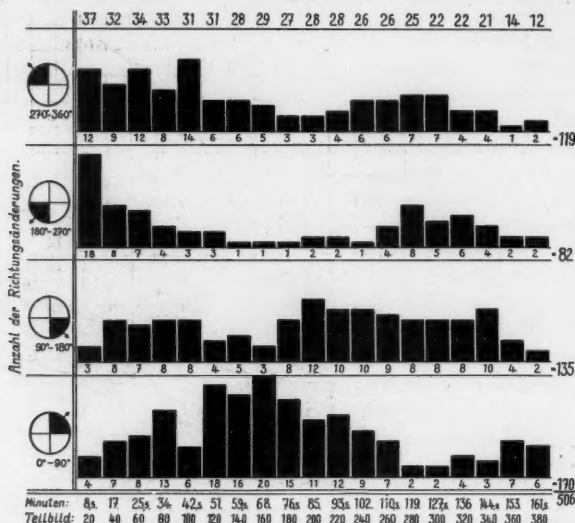


Abb. 6. Aus Abb. 4 gewonnene zusammenfassende Darstellung der Anzahl der Richtungsänderungen in den vier Richtungsquadranten der „Rosette“ (Abb. 4). Abszisse: Zeit in Minuten nebst Nummer der Teilbilder; Ordinate: Anzahl der Richtungsänderungen. Man beachte die Lage der jeweiligen „Maxima“ und „Minima“.

Spiralbahn deutlich erkennen. Die zweitgrößte Geschwindigkeit zeigt 21 mit 1,85 mm Weglänge. Ihr starker Geschwindigkeitsanstieg erfolgt etwa ab Teilbild 180. Ungefähr ab Teilbild 300 (127,5. Minute) tritt eine zweite Auflockerung des Kurvenbündels ein: extrem langsame und maximal schnelle Tiere treten deutlicher in Erscheinung. Für die schnellsten Tiere (5, 6, 7, 8) ergibt sich eine durchschnittliche Geschwindigkeit von  $15 \mu$  je Minute, für die langsamsten  $3 \mu$  je Minute, um eine Vorstellung von der vorliegenden Größenordnung zu geben. Manche Weg-Zeit-Kurven zeigen einen glatten Verlauf mit wenig Knicken; bei anderen wechseln größere mit geringeren Geschwindigkeiten ab, was durch gebrochenen Verlauf und wechselnde Winkel mit der Abszissenachse zum Ausdruck kommt. Auf die Fehlerquelle, daß Auf- und Abwärtsbewegungen der Tiere oder mehr oder weniger schräge Bewegungen nach oben oder unten infolge der scheinbaren Verkürzung der Bahn Geschwindigkeitsänderungen durch einen gebrochenen Kurvenverlauf vortäuschen können, wurde bereits hingewiesen. Den Anteil

dieses Fehlers am Kurvenverlauf exakt zu bestimmen ist nicht möglich, da der allen durch die Teilbildanalyse gewonnenen graphischen Darstellungen letztlich zugrunde liegende Zeitrafferfilm nur die in der Horizontalebene verlaufenden Bewegungen der Actinosphaerien maßstabgetreu wiedergibt und schräge Bewegungen auf- und abwärts nur bereits mehr oder weniger verkürzt darstellen kann. Sehr groß wird dieser Fehler wohl nicht sein, da die Horizontalbewegung vorzuherrschen scheint.

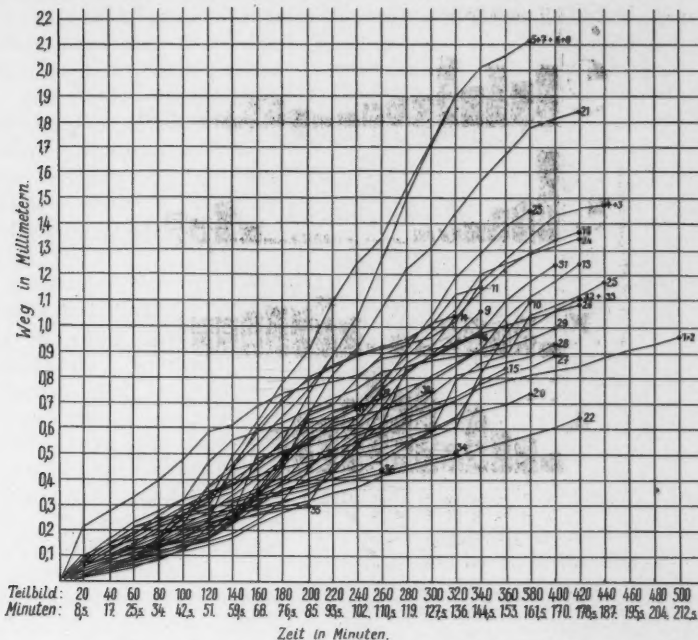


Abb. 7. Aus Abb. 3b erhaltene Darstellung der „Weg-Zeit-Kurven“ der 36 Actinosphaerien. Abszisse: Zeit in Minuten; Ordinate: Weg in Millimetern. Innerhalb der 1. Stunde des Versuches eng gebündelter Kurvenverlauf (relativ geringe Geschwindigkeit, verursacht durch das Eindringen der Tiere in das Mikroaquarium; dann Aufspaltung und verschiedene Vergrößerung der Geschwindigkeiten je nach dem bewegungsphysiologischen Verhalten der Tiere (Plasmogamien!).

Der auffallend starke Parallelverlauf der Weg-Zeit-Kurven innerhalb der 1. Stunde des Versuches mit annähernd gleichem Winkel zur x-Achse deutet die Bewegungsstörung der Tiere infolge des Umsetzens vom großen Zuchtbecken in das Mikroaquarium (Glasringpräparat) an.

Nach einer Aufnahmepause von 12<sup>h</sup> und 2<sup>m</sup> zeigt die Teilbildanalyse einer kurzen Mikrozeitraffer-Aufnahme das in Abb. 8 dargestellte Verhalten der im Bildfeld verbliebenen Tiere. Es befinden sich noch 12 Einzeltiere im Bildfeld, von denen noch 9 sich aktiv bewegen und relativ große Wege zurücklegen; die Bahnen sind eingetragen (nach Teilbild 100 fand eine

längere Beobachtungspause statt, gekennzeichnet durch Punktierung der Bahn). Oben rechts kommt noch eine Plasmogamie zustande. Drei der noch vorhandenen Einzeltiere „treten auf der Stelle“.

Während der Pause von 12<sup>h</sup> sind zwei große gelappte Aggregate entstanden, die ständig langsam ihre Gestalt ändern (Anfangslage ausgezogen,

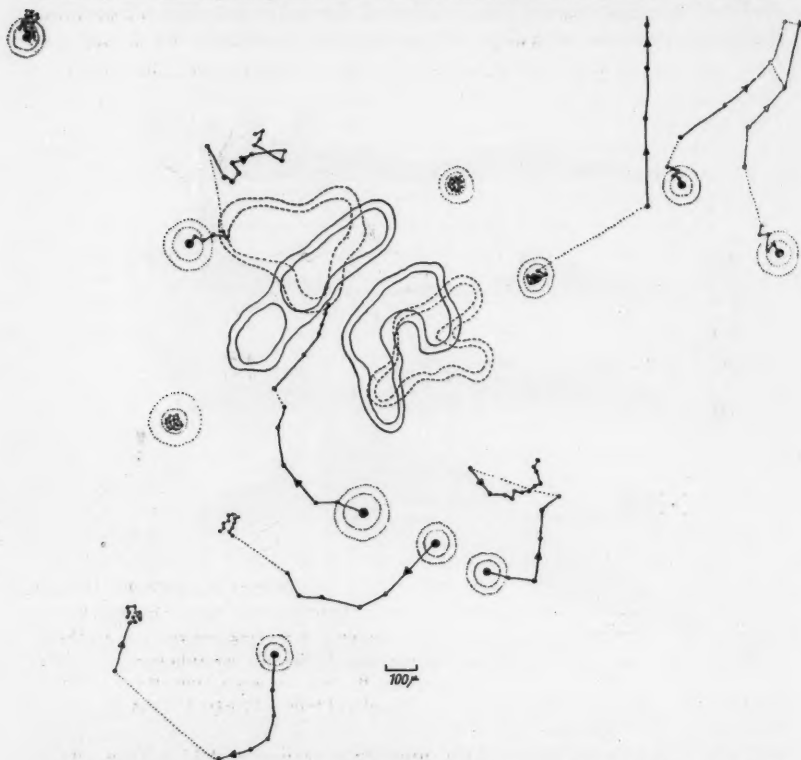


Abb. 8. Bewegungsablauf der 12<sup>h</sup> 2<sup>m</sup> nach der Endlage der Tiere in Abb. 3 a und 3 b noch im Bildfeld vorhandenen Actinosphaerien. Zwei große Aggregate und zwölf Einzeltiere. Durch Teilbildanalyse gewonnen. Teilstrich = 100 µ.

Endlage gestrichelt). Das zuerst langgestreckte obere Aggregat hat zum Schluß eine abgerundet-gelappte Form angenommen. Wie an anderer Stelle genauer ausgeführt wird, ist diese Gestalt das Anzeichen dafür, daß in Kürze ein Zerfall des Aggregates in drei Teilaggregate — ohne Rücksicht auf die früheren „Pseudoindividualgrenzen“ beim Zustandekommen des Aggregates durch Plasmogamievorgänge — vor sich gehen wird. Aus Abb. 8 geht hervor: 15<sup>h</sup> nach Versuchsbeginn sind die Lebensbedingungen im Präparat noch gut; Einzeltiere bewegen sich noch richtungslos umher und können Plasmogamien durchführen. Große Aggregate zeigen ständige



langsame Gestaltveränderungen und die ersten Anzeichen des Zerfalls in kleinere Aggregate.

Weitere 20<sup>h</sup> später bietet das Bildfeld den Anblick der Abb. 9. Fünf sehr kleine Einzeltiere zeigen in der Beobachtungszeit von 1<sup>h</sup> und 25<sup>m</sup> noch geringe Ortsverlagerungen infolge von Eigenbewegung, und zwar maximal 250  $\mu$ , minimal etwa 80  $\mu$ . Zwei „Pseudoindividuen“ haben sich unterdessen enzystiert; die größere, 350  $\mu$  im Durchmesser aufweisende Cyste zeigt im Zeitrafferlaufbild ein bemerkenswertes Verhalten: der Inhalt rotiert langsam in der Cysten-  
hülle, wie die Pfeile andeuten, und zwar entgegen dem Uhrzeigersinn. Dieses merkwürdige bewegungsphysiologische Verhalten wurde noch in einigen weiteren Fällen im beschleunigten Laufbild beobachtet.

Drehungen von mehr oder weniger kugeligen Zellverbänden in völlig geschlossenen „Hohlkugeln“ wurden unter Änderung des Zeitmomentes im Laufbild z. B. während der Furchung des Eies von *Psammecinus miliaris* Gmel. beobachtet (W. und G. Kuhl 1948). Der Keim befand sich auf dem 32-Zellen-Stadium und drehte sich entgegen dem Uhrzeigersinn. Bewegungsorgane sind auch hier nicht — oder besser noch nicht — an den Blastodermzellen vorhanden.

Bei der Untersuchung der Furchung des Eies der weißen Maus unter Zeitraffung (W. und G. Kuhl 1941, Filmaufnahmen 1936 und 1937 zusammen mit Dr. H. Freksa) ergab die Beobachtung des beschleunigten Laufbildes Rotationsbewegungen des nach Erreichung des 8-Zellen-Stadiums sich fast völlig abkugelnden Keimes, der dabei sogar der Zona pellucida innen dicht anliegt!

Bei allen derartigen Fällen sind Deutungen über das Zustandekommen der Drehbewegungen noch verfrüht; die Anwendung des Zeitrafferfilms in der Cytologie der lebenden Zelle befindet sich ja erst in ihrem Anfangsstadium.

Aus wie vielen „Pseudoindividuen“ sich der langsam rotierende Cysteninhalt der Abb. 9 zusammensetzt, ist leider nicht mehr feststellbar, würde wohl auch nicht zur Klärung der Sachlage beitragen. Die gesamten Vorgänge der Cystenbildung, der Teilungen innerhalb der Cysten-  
hülle sowie der

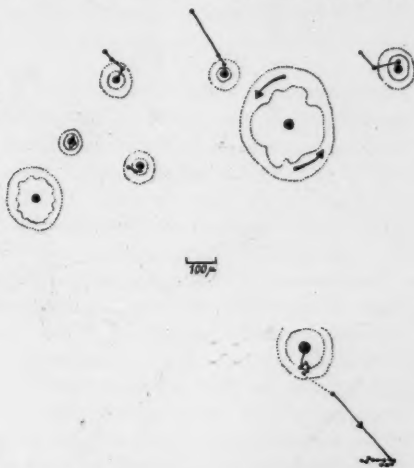


Abb. 9. Weitere 20 Stunden nach der Endlage in Abb. 8. Fünf kleine Einzeltiere zeigen noch geringfügige Ortsverlagerungen. Bemerkenswert ist das Verhalten des Inhaltes der großen Cyste: Rotation unter Zeitraffung im Sinne der Pfeile. Teilstrich = 100  $\mu$ .

Autogamie bedürfen noch einer genaueren Untersuchung mit Hilfe unserer Methodik.

Die Teilbildanalyse eines zweiten Massenversuches (Einstellung 54) wird eine weitere Klärung des bewegungsphysiologischen Verhaltens von *Actinosphaerium* ergeben.

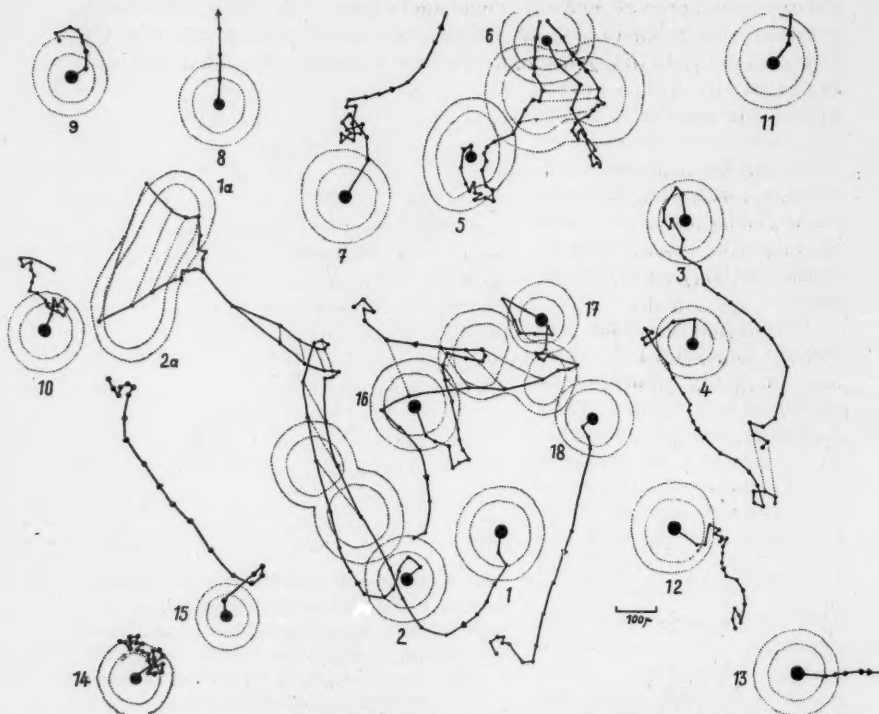


Abb. 10. Aus einer Mikrozeitraffer-Filmaufnahme mit Hilfe der Teilbildanalyse gewonnene Darstellung der Bahnen von 18 *Actinosphaerien*. Plasmogamien und Wiedertrennungen; Schleifen- und Spiralbahnen. Anfangslage punktiert konturiert. Zeitabstand der Bahnpunkte:  $8,5^m = 20$  Teilbilder. Teilstrich =  $100 \mu$ .

In Abb. 10 liegen 18 Tiere im Bildfeld, deren Umriss (Ekto- und Entoplasma) in der Anfangslage punktiert dargestellt ist; der Mittelpunkt ist wiederum durch einen dicken schwarzen Punkt gekennzeichnet (er fehlt bei den eingezeichneten Zwischenphasen von vier Plasmogamien!).

Bei den Tieren 1 und 2 ist der Verlauf der Bahn bis zur Vollendung ihrer Plasmogamie und der nachfolgenden Trennung besonders instruktiv. Wie die Zwischenskizze nach erfolgter Berührung der beiden Tiere zeigt, bewegt sich das Doppeltier nahezu in Richtung seiner Längsachse vorwärts. Die Mittelpunkte der beiden „Partner“ führen dann während des Vorganges der Abrundung eine kleine Schleifenbewegung durch. Nach dem

Zusammenfallen der Mittelpunktslagen vergehen nur 8,5<sup>m</sup> bis zum Beginn der Trennung. Während dieser bewegt sich das Doppeltier nur noch in geringem Umfange in der alten Richtung weiter. Das Auseinandergehen erfolgt, wie aus der Abb. 10 klar hervorgeht, senkrecht zur Richtung der Ortsverlagerung; die Trennung hebt demnach nicht die Fähigkeit zur Bewegung auf, sondern hemmt sie höchstens.

Die Partner 3 und 4 legen relativ große Wege bis zur Berührung zurück; beide Bahnen verlaufen gleichsinnig und für längere Strecken fast parallel. 4 führt zweimal kleine spiralige Schleifen aus, die im beschleunigten Laufbild den oben erwähnten Eindruck einer „tänzenden“ Bewegung hervorrufen.

Bei der Plasmogamie zwischen 5 und 6 führen beide Actinosphaerien zunächst verschieden lange Bewegungen nach „unten“ (in der Zeichnung) aus; 6 wendet sich nach ungefähr einer Stunde scharf in die entgegengesetzte Richtung und kreuzt zweimal seine frühere Bahn unter zweimaliger Schleifenbildung. 5 wendet erst nach 1½ Stunden um. Bis zur völligen Abkugelung nach der Verschmelzung vergehen noch nahezu 2½ Stunden. Die Umrisszeichnung des sich bildenden Doppeltieres (Mittelpunkte der beiden Partner durch punktierte Linien verbunden) läßt erkennen, daß in diesem Falle die größte Längsausdehnung senkrecht zur Richtung der Fortbewegung liegt, im Gegensatz zu 1 und 2, bei denen während der Vereinigung die Verbindungslinie der Mittelpunkte einen spitzen Winkel zur „Doppelbahn“ bildet. Der Vorgang der Plasmogamie scheint demnach keinen wesentlichen Einfluß auf die Richtung der Bewegung auszuüben. Bei der sehr geringen Geschwindigkeit der Actinosphaerien dürfte es belanglos sein, ob sich langsam abkugelnde „Doppeltiere“ mit ihrer Längsachse parallel zur Bewegungsrichtung einstellen oder senkrecht zu ihr (5, 6). Im Falle 5, 6 wird infolge der queren Lage zur Bahn ein größerer Wasserwiderstand bewirkt als im Falle 1, 2. Ein derartiger Widerstand dürfte jedoch bei der hier vorliegenden Größenordnung der sich aktiv fortbewegenden Heliozoen und bei der sehr geringen, subjektiv überhaupt nicht wahrnehmbaren Geschwindigkeit keine Rolle spielen.

Einen eigenartigen Bahnverlauf weisen die Tiere 16 und 17 auf. Die recht verwickelten Anfangsbahnen führen die Tiere auf Umwegen und Schleifen nach acht- bis zehnmalem Richtungswechsel schließlich zusammen. Es kommt zum Kontakt und zur Einleitung einer Plasmogamie (Abb. 10, das punktiert gezeichnete Zwischenstadium). Eine Abkugelung findet jedoch nicht statt, die Partner trennen sich wieder. 17 führt nach der Trennung einen scharfen Richtungswechsel, vom anderen Partner weg, aus; von 16 wird bald „auf der Stelle getreten“.

Die restlichen 10 Einzeltiere verhalten sich wiederum sehr verschieden. 7 führt anfänglich eine relativ große Kurve aus; dann folgt eine Bewegungsphase mit etwa zwölfmaligem Richtungswechsel ohne große Ortsveränderung, worauf das Tier in flacher Kurve aus dem Bildfeld verschwindet und bis zur Grenze noch 350  $\mu$  zurücklegt. 8 bewegt sich geradlinig aus dem Bildfeld; 9 führt eine kurze, enge Kurve aus. 10 ändert etwa zehnmal unter

Schleifenbildung die Richtung, ohne eine erhebliche Strecke zurückzulegen. 11 und 15 geraten auf kurzer, fast geradliniger Bahn bald aus dem Bildfeld. 12 weist eine kurze, zu Anfang und gegen Ende etwas verwickelte Bahn auf. 14 ist in seiner Bewegungsweise charakteristisch für das „Auf-der-Stelle-Treten“. Nach einem Anlauf von  $90\mu$  während der ersten  $8,5^m$  zu Beobachtungsbeginn stockt die Fortbewegung fast ganz und es werden nur noch

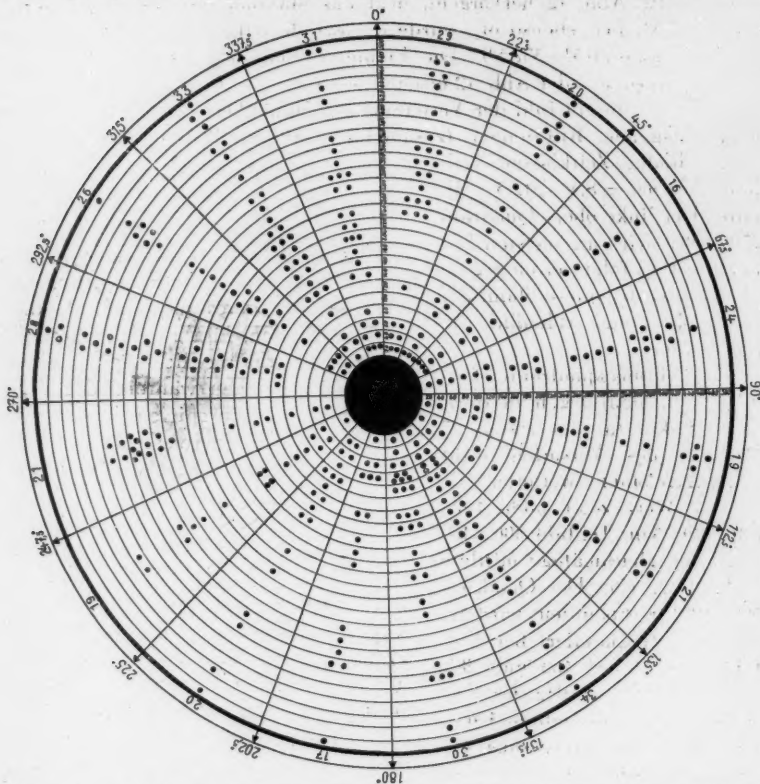


Abb. 11. Aus Abb. 10 erhaltene „Richtungsrosette“. Näheres siehe Erklärung zu Abb. 4.

recht verwickelte, durchschnittlich etwa  $20\mu$  je Beobachtungsintervall betragende Ortsveränderungen vorgenommen, bei denen mindestens 17mal die Richtung gewechselt wird. Das in der Anfangslage nur  $100\mu$  entfernte *Actinosphaerium* 15 führt in der gleichen Zeit eine aktive Ortsverlagerung von etwa  $1050\mu$  aus. Zu Anfang wird eine Schleife gebildet, gegen Versuchsende die Richtung noch viermal geändert. 18 legt etwa  $950\mu$  zurück auf einer fast geradlinigen Bahn, die erst gegen Ende gekurvt wird.

Abb. 10 kann nur ungefähr einen Eindruck von der eigenartigen, oben

mehrfach als „tänzelnd“ bezeichneten Bewegungsweise der Actinosphaerien vermitteln, wie ihn uns allein das beschleunigte Laufbild geben kann. Die folgenden Darstellungen zeigen Ergebnisse der Teilbildanalyse der Einstellung 54 (Abb. 10).

Die Richtungsrosette, Abb. 11, weist eine gleichförmigere Verteilung der eingeschlagenen Richtungen auf als Abb. 4. Wie aus der zusammenfassenden Rosette Abb. 12 hervorgeht, liegt das Maximum im Richtungssektor  $155^{\circ}$ – $337,5^{\circ}$ ; fast ebenso oft wurde die gerade entgegengesetzte Richtung eingeschlagen ( $315^{\circ}$ – $337,5^{\circ}$ ). Die Frequentierung der übrigen Richtungssektoren möge aus der Abb. 12 ersehen werden.

Abb. 13 gibt ein Bild der Verteilung der Häufigkeit der in diesem Falle eingeschlagenen Richtungen (zusammengefaßt in Richtungsquadranten) innerhalb der „Zeitklassen“ Teilbild 20–500 = 8,5–212,5 Minute. Der linke obere Quadrant  $270^{\circ}$ – $360^{\circ}$  wird am meisten frequentiert; es folgt der entgegengesetzte rechte untere, dann der rechte obere und schließlich der linke untere.

Im Richtungsquadranten  $0^{\circ}$ – $90^{\circ}$  (rechts oben) liegen die Richtungspunkte in den ersten 25 Minuten des Versuches dicht gedrängt; einen weiteren extremen Wert zeigt noch Teilbild 120. Von Teilbild 300–460 liegt eine gleichmäßige mittlere Anhäufung vor. Der Quadrant  $90^{\circ}$ – $180^{\circ}$  (rechts unten) wird am stärksten frequentiert bei Teilbild 80–100, bei 160 und 280. In der zweiten Hälfte des Versuches – etwa ab Teilbild 320 – wird diese Gesamtrichtung nur selten eingeschlagen.

Der Richtungsquadrant  $180^{\circ}$ – $270^{\circ}$  wird zeitlich „bevorzugt“ bei Teilbild 60–180 und zum zweitenmal bei Teilbild 320–380. Dazwischen liegen Zeiten, in denen diese Richtung kaum eingeschlagen wird. Im linken oberen Quadranten ( $270^{\circ}$ – $360^{\circ}$ ), dessen Richtung am häufigsten (118mal) eingeschlagen wird, läßt sich die „Hauptfrequenz“ bei Teilbild 180–260 feststellen; zu Anfang (Teilbild 20–40) und gegen Versuchsende (Teilbild 400 bis 440 und 480–500) liegen weitere Anhäufungen der Richtungspunkte. Wie aus Abb. 12 hervorgeht, liegen bei der Einstellung 54 die stärksten Anhäufungen der Richtungspunkte im linken oberen und rechten unteren Richtungsquadranten ( $270^{\circ}$ – $360^{\circ}$  und  $90^{\circ}$ – $180^{\circ}$ ), also einander gegenüber um einen Durchmesser des Richtungskreises angeordnet (118:104 Richtungs-

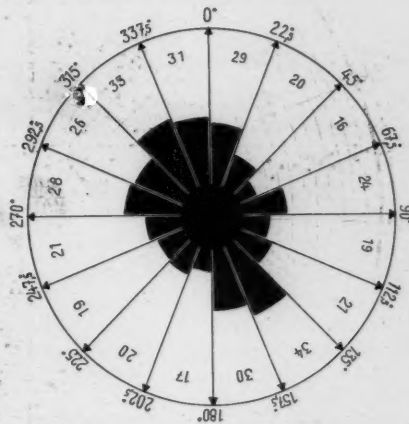


Abb. 12. Aus Abb. 11 gewonnene graphische Darstellung der „Häufigkeit“ der innerhalb der Versuchszeit eingeschlagenen Richtungen in den 16 Richtungssektoren. Zwei gegenüberliegende „Maxima“ bei  $135^{\circ}$ / $337^{\circ}$ .



punkte), die geringsten Anhäufungen um einen senkrecht dazu stehenden Durchmesser (rechter oberer und linker unterer Quadrant, 89:77 Richtungspunkte).

Die Folge dieses zufälligen Geschehens äußert sich in Abb. 13 dadurch, daß je zwei durch schwarze Rechtecke der Häufigkeit der Richtungspunkte gekennzeichnete Horizontalreihen, die (im vertikalen Sinne) „benachbart“ liegen — also  $0^\circ-90^\circ$  und  $90^\circ-180^\circ$ ,  $90^\circ-180^\circ$  und  $180^\circ-270^\circ$  sowie  $180^\circ-270^\circ$  und  $270^\circ-360^\circ$  — da ein „Maximum“ aufweisen, wo die Nachbarreihe ein „Minimum“ zeigt (besonders deutlich bei den beiden oberen Reihen). Die Ausdrücke „Maximum“ und „Minimum“ sind hier wegen der

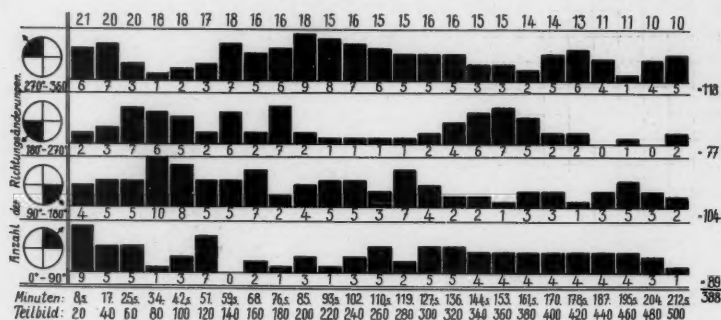


Abb. 13. Aus Abb. 11 erhaltene zusammenfassende graphische Darstellung der Anzahl der Richtungsänderungen in den vier Richtungsquadranten der „Rosette“ (Abb. 11). Abszisse: Zeit in Minuten und Nummer der Teilbilder; Ordinate: Anzahl der Richtungsänderungen. Man vergleiche die Lage der „Maxima“ und „Minima“ in den vier Quadranten.

zu geringen Zahl „n“ der Beobachtungen nicht im strengen Sinne der Biometrik aufzufassen.

Aus der Teilbildanalyse der „Bahnen“ der Actinosphaerien, Abb. 10, wurde, wie bei der Einstellung 63, die Weg-Zeit-Kurve konstruiert (Abb. 14). Ein Vergleich mit Abb. 7 lehrt, daß im wesentlichen das gleiche Bild vorliegt. Durchschnittlich beträgt der Winkel der Weg-Zeit-Kurven mit der Abszissenachse während der ersten Stunde des Versuchs in beiden Fällen etwa  $30^\circ$ . Entsprechend der doppelt so großen Zahl der Versuchstiere der Einstellung 63 gegenüber 54 (36:18) zeigt Abb. 7 größere Extremwerte für die Geschwindigkeit der Tiere. Auch Abb. 14 der Einstellung 54 läßt eine ähnliche „Aufspaltung“ des Kurvenbündels nach der ersten Stunde (Teilbild 140, 59,5. Minute) erkennen wie bei den Weg-Zeit-Kurven der Einstellung 63 (Abb. 7). Alles übrige ersehe man aus der graphischen Darstellung selbst.

Die Abb. 15—19 zeigen weitere Ergebnisse der Teilbildanalyse der Einstellung 54 nach Einschaltung von mehrstündigen Pausen.

14 Stunden nach der Endlage der Mittelpunkte der Actinosphaerien in Abb. 10 liegt eine Anordnung der Tiere und ein bewegungsphysiologisches



Verhalten vor, wie es in Abb. 15 zum Ausdruck kommt. Das Präparat wurde über Nacht in feuchter Kammer gehalten. Die weit auseinander liegenden Tiere wurden dann mit einer Nadel vorsichtig genähert, filtriertes Aquarienwasser nachgefüllt und das Deckglas ohne Luftblase aufgelegt. Ein Tier hat sich über Nacht encystiert und zeigt eine dicke Gallerthülle.

Es sind die Bahnen der Tiere nach der langen Pause für einen Zeitraum von 59,5<sup>m</sup> dargestellt. 8 Einzeltiere legen verschieden lange und gestaltete Wege zurück. 6 Tiere zeigen eine Hauptrichtung ihrer Bahn, die auf die

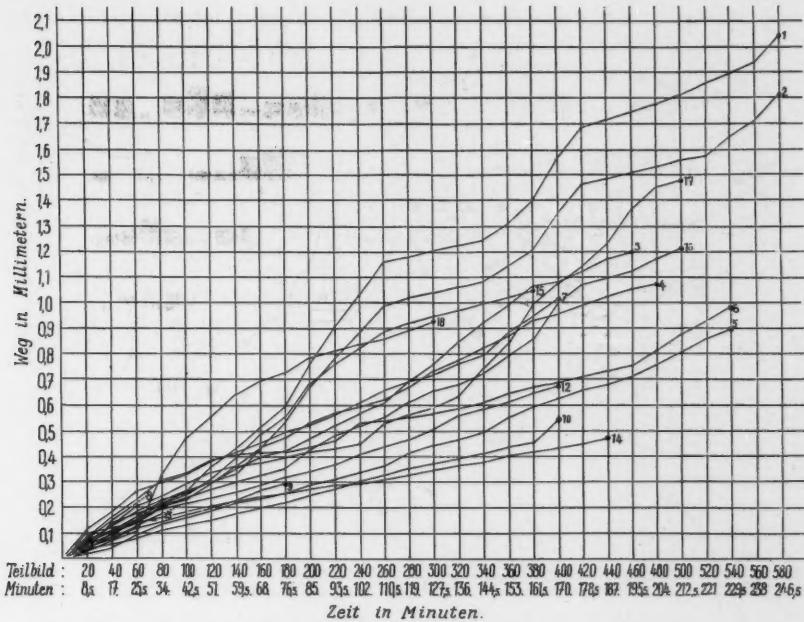


Abb. 14. Aus Abb. 10 gewonnene Darstellung der „Weg-Zeit-Kurven“ der 18 *Actinosphaerien*. Abszisse: Zeit in Minuten; Ordinate: Weg in Millimetern. Ähnlicher Kurvenverlauf der Geschwindigkeit der Tiere wie in Abb. 7.

Mitte des Bildfeldes hinzielt; hier liegt ein großes, mindestens aus fünf *Actinosphaerien* bestehendes Aggregat, das sich gerade abkugelt. Ob diese etwas auffällige Bewegungsrichtung ein zufälliges Geschehen ist oder ob von der Zusammenballung derart vieler Sontentierchen in der Mitte des Bildfeldes irgendwelche — chemische? — Reize ausgehen, die die in diesem Falle relativ weitab liegenden Tiere zu einer „zentripetal“ gerichteten Bewegung zu veranlassen vermögen, kann hier noch nicht entschieden werden. Nur 2 Tiere weisen eine „zentrifugal“ gerichtete Bewegung auf (rechts oben und nahe der Mitte unten). Am rechten Rande liegt eine große, völlig unbewegliche Cyste.

Das in der Mitte gelegene fünfzellige Aggregat läßt zwei Phasen erkennen: rechts oben eine in der Abkugelung befindliche „Dreiergruppe“, an der links unten zwei untereinander verschmelzende Tiere in recht unstabiler Lage hängen. Soweit zulässig, sind die Mittelpunkte der ehemaligen „Pseudoeindividuen“ eingetragen, nebst ihren Verlagerungen untereinander

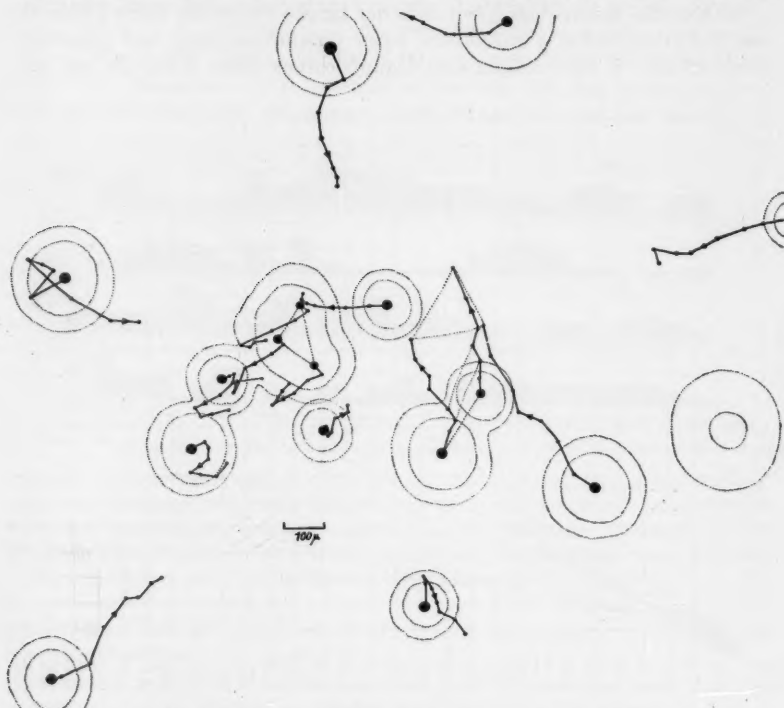


Abb. 15. Lage und Bewegungsablauf der 14 Stunden nach der Endlage in Abb. 10 noch im Bildfeld vorhandenen Actinosphaerien. Darstellung des Verlaufes der Bahnen für den Zeitraum von 59,5<sup>m</sup>. In der Bildfeldmitte großes, mindestens aus fünf Tieren bestehendes Aggregat während der Phase der Abkugelung. Teilstrich = 100  $\mu$ .

infolge der weiteren Durchführung der Plasmogamie, verbunden mit einer Abrundung des gesamten neu entstehenden Gebildes innerhalb der Beobachtungszeit von 59,5<sup>m</sup>.

Da die das große Aggregat zusammensetzenden 5 Tiere bereits in verschiedenem Grade untereinander verschmolzen sind, muß selbstverständlich die Bewegung der Mittelpunkte der ehemaligen Areale der Partner eine zwangsläufige sein, was in den Bahnen ja auch klar zum Ausdruck kommt. Eine vollkommene Gleichheit der Mittelpunktbahnen würde bedeuten, daß sich das große Aggregat als Ganzes bewegt hat. Die

Bahnen sind jedoch nur mehr oder weniger ähnlich und die Abweichungen von der völligen Gleichheit stellen die Gestaltänderungen des sich kontrahierenden und abkugelnden Aggregates dar.

Das rechts gelegene, in Abrundung begriffene, aus verschiedenen großen Partnern bestehende Doppeltier nimmt während der Versuchszeit einen großen dritten Partner auf. Das Doppeltier bewegt sich in schräger Rich-



Abb. 16. 2<sup>h</sup> 44<sup>m</sup> nach der Endlage in Abb. 15. Näheres im Text. Beobachtungsdauer: 51<sup>m</sup>. Teilstrich = 100 µ.

tung in bezug auf seine größte Längsausdehnung (Verbindungsline der Partnermittelpunkte).

Nach einer weiteren Pause von 2<sup>h</sup> 44<sup>m</sup> seit der Endlage der Abb. 15, während der das Mikroaufnahme-Aquarium im Dunkeln gehalten wurde, zeigt die Teilbildanalyse in der Abb. 16 die Anfangslage und eine Darstellung der noch stattfindenden Bewegungen der gleichen Objekte.

In der Mitte, oben, ist ein neues Tier zum großen Teil in das Bildfeld gewandert, das eine selten geradlinige Bahn durchläuft und wieder aus dem Gesichtsfeld verschwindet. Rechts von diesem Tier bewegt sich ein zweites, kleineres *Actinosphaerium* in entgegengesetzter Richtung aus dem Bildfeld. In der rechten oberen Ecke ist ein Doppeltier sichtbar geworden, das durch die Aufnahme eines Einzeltieres zum Dreifachtier wird. Die rechts

gelegene Cyste hat Lage und Aussehen nicht verändert. Die noch vorhandenen weiteren vier Einzeltiere „treten nur noch auf der Stelle“.

Das links in der Mitte gelegene große Aggregat besteht jetzt aus mindestens 7 Tieren, es sind jedoch nur 6 Mittelpunkte ehemaliger „Pseudoindividuen“ eingetragen, da in der Mitte des Aggregates die Verschmelzung bereits über die Phase hinausgegangen ist, in der die Individualareale noch wahrnehmbar sind. Die Bahnen der Mittelpunkte dieser Areale setzen sich wiederum aus zwei Komponenten zusammen: der Eigenbewegung des

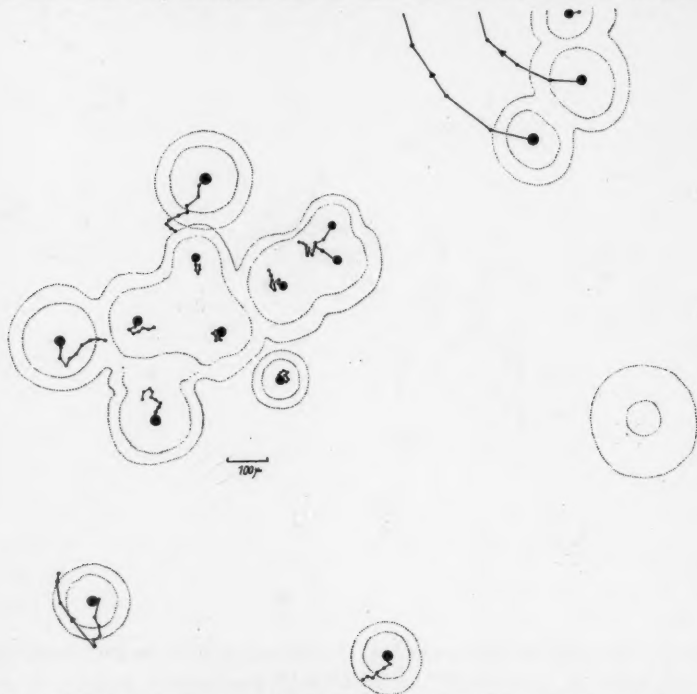


Abb. 17. Verhalten des Restmaterials der Abb. 10 innerhalb von 76,5<sup>m</sup> nach der Endlage von Abb. 16. Im großen Aggregat sind noch acht Areale der ehemaligen Plasmogamiepartner erkennbar. Teilstrich = 100 µ.

gesamten Aggregates (gleichsinnige Richtung der Bahnen) und der Verlagerung der Mittelpunkte der ehemaligen „Pseudoindividualbezirke“, die durch den Verschmelzungsvorgang bzw. dessen letzte Phase, die Abrundung, bedingt sind. Die „Wege“ der Mittelpunkte sind wesentlich kürzer geworden als in Abb. 15, zu Beginn der Verschmelzung.

Das rechts vom Großaggregat gelegene „Dreifachtier“ zeigt Mittelpunktsverlagerungen in etwas größerem Umfange innerhalb der aufgezeichneten Beobachtungszeit von 51<sup>m</sup>; die Komponente der Eigenbewegung ist hier noch größer als bei dem großen, sich aus 7 Tieren zusammensetzenden Aggregat.

Man vergleiche die Anfangslage des durch die drei Mittelpunkte gegebenen Dreiecks (punktierter Linie) mit der nach links oben verlagerten Endlage. Was in den weiteren 76,5<sup>m</sup> geschieht, läßt Abb. 17 erkennen. Die beiden — im Bilde unten gelegenen — Tiere zeigen wieder größere Ortsverlagerung als in der Teilbildanalyse Abb. 16. Die rechts gelegene Cyste liegt bewegungslos an der gleichen Stelle. Rechts oben „schwenkt“ die noch reihenförmige Dreiergruppe aus dem Gesichtsfeld, und zwar relativ schnell.

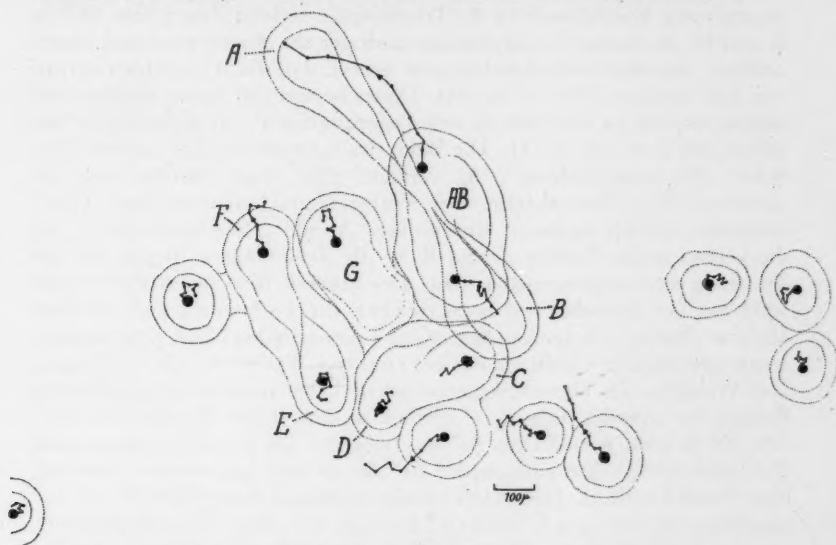


Abb. 18. Darstellung der Wiederaufspaltung einiger großer Aggregate aus dem Material der Abb. 10. Andere Stelle des Präparates. 2<sup>h</sup> 44<sup>m</sup> nach der Endlage des Materials der Abb. 17. Wesentlich ist, daß die Trennung der Aggregate nicht in den alten Grenzen der verschmolzenen „Pseudoindividuen“ erfolgt, sondern in neuen Zonen! Bei AB ist A deutlich der aktive Teil bei der Trennung. Teilstrich = 100 µ.

Das in der Mitte gelegene große Aggregat läßt noch acht Areale ehemaliger Plasmogamiepartner erkennen, deren Mittelpunkte wiederum durch einen dicken Punkt kenntlich gemacht sind. Das rechts unterhalb des Aggregates gelegene kleine Einzeltier hat sich von diesem getrennt, das obere größere geht eine Plasmogamie mit dem Aggregat ein. Ein Vergleich mit Abb. 16 zeigt ohne weiteres, was inzwischen geschehen ist. Im Inneren des Aggregates werden die Arealmittelpunkte jetzt nur noch wenig verlagert; die Außenpartner, deren Vereinigung mit dem zentralen Teil noch nicht beendet ist, weisen noch längere Bahnen ihrer Mittelpunkte auf, die im wesentlichen zentripetal gerichtet sind.

Nach einer weiteren Pause von 2<sup>h</sup> 44<sup>m</sup> ist die Wiederaufspaltung des großen Aggregates in vollem Gange (Abb. 18); infolge einer technisch be-

dingten Verlagerung des Bildfeldes ist die Identifizierung der „Partner“ nicht mehr ganz einfach, auf die es aber hier nicht mehr so sehr ankommt.

Wesentlich ist der Bewegungsmodus selbst bei der Trennung des Aggregates. Der erste Blick auf Abb. 18 zeigt bereits deutlich, daß die Auflösung des Aggregates keineswegs in den alten Grenzen der „Pseudoindividuen“ erfolgt, sondern in neuen Zonen! An anderer Stelle wird auf den „Mechanismus“ der Trennung — in mikrodynamischer Hinsicht — näher eingegangen. Von Interesse ist die Trennung der rechten oberen Zone (A B in A und B); es ist eine Zwischenphase nach der 68. Minute punktiert eingezeichnet. Aus der Teilbildanalyse geht hervor, daß die Hauptbewegung von dem oberen „Tier“ A ausgeht. Dieses bewegt sich in der gleichen Zeit nahezu dreimal so weit fort als sein Gegenpartner B; die Bahnlängen verhalten sich etwa wie 30:11. Die Bahn des neuentstehenden „oberen“ (im Bilde) „Pseudoindividuum“, A, verläuft glatt, aber gekrümmt, die des „unteren“, B, in Zickzackform. Der Aggregatanteil, aus dem diese „Tiere“ entstehen, enthält bestimmt eine größere Anzahl „Pseudoindividuen“ als die beiden neuen Anteile A und B, in die diese Aggregatregion bei der Trennung auseinandergezogen wird. Der größere Weg von A erklärt sich wohl aus der Tatsache, daß B zu Beginn der Trennung noch mit den übrigen „Resten“ des großen Aggregates zusammenhängt; das Auseinanderweichen wird in der Richtung des geringsten Widerstandes vollzogen. Das Verhalten der übrigen Aggregatanteile kann aus den aufgezeichneten Bahnen der „Arealmittelpunkte“ ersehen werden. Diese Mittelpunkte werden z. T. in recht verwinkelten Bahnen verlagert. Bei C und D bewegen sich die Arealmittelpunkte aufeinander zu, obwohl eine beginnende Trennung oder Zweifel vorliegt. Diese merkwürdige Richtung hängt vielleicht mit anfänglichen eigenartigen Gleitbewegungen der neuen Trennungspartner zusammen (durch die punktierte Linie im Entoplasma angedeutet). Bei der Trennung von E und F wird dieses „Aneinandervorbeigleiten“ in der Zeichnung sehr deutlich. Auffallend ist das sehr hohe Ektoplasma in dieser entoplasmatischen „Gleitzone“. Bei G konnte bei der Teilbildanalyse ein zweiter Arealmittelpunkt nicht genau ermittelt werden.

Abb. 19 gibt einen Überblick über den Ablauf der Trennungsvorgänge während der folgenden 51 Minuten. Die Mittelpunkte von A und B sind jetzt über  $1000\ \mu$  auseinandergezogen, die beiden neuentstandenen „Pseudoindividuen“ hängen nur noch durch einen äußerst dünnen Protoplasmafaden zusammen. Immer noch führt A die größte, jetzt praktisch sogar die alleinige Bewegung durch, denn der Mittelpunkt von B erfährt innerhalb der Versuchszeit nur noch sehr geringe Ortsverlagerungen. A verschwindet innerhalb der Versuchszeit aus dem Bildfeld. C und D haben sich nicht erheblich weiter voneinander entfernt. G ist aus dem Zusammenhang mit CD geraten und haftet jetzt nur noch in breiter Fläche F an. E und F befinden sich in der Anfangsphase des fadenförmigen Ausziehens der letzten entoplasmatischen Verbindung.

Die übrigen im Bildfeld nach der Beobachtungspause neu aufgetretenen Einzeltiere „treten auf der Stelle“.



Daß nach einer Massenplasmogamie (der oft benutzte Ausdruck „Freßgemeinschaft“ kann hier nicht angewandt werden, da im Glasringpräparat keine schwer zu überwältigenden Beuteobjekte vorhanden waren) sehr rasch wieder Trennungen stattfinden, wurde oft beobachtet, aber nur bei Plasmogamien, die infolge experimenteller Beeinflussung in erleichterter Weise zustande gekommen sind, Versuche, über die an anderer Stelle genauer berichtet wird. Es scheint also nicht vom „gekünstelten“

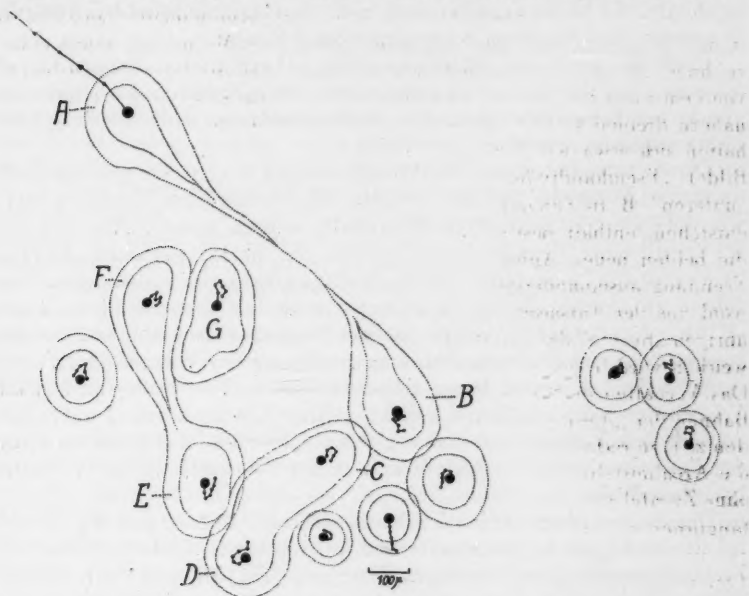


Abb. 19. Fortsetzung des Trennungsablaufes der Abb. 18 während der folgenden 51 Minuten. Erhebliche aktive Ortsverlagerung von A unter Ausziehen eines langen Cytoplasmafadens; B bleibt an Ort und Stelle. Teilstrich = 100 µ.

Zustandekommen einer Massenplasmogamie, also von den Faktoren ihres Werdeganges abzuhängen, daß die entstandenen Riesenaggregate eine große Unstabilität zeigen, sondern von inneren.

Man könnte sagen: es kommt bei den Massenplasmogamien zu keiner eigentlichen Verschmelzung der Entoplasmaanteile zu einem einheitlichen Entoplasmakörper, und dies ist der Grund zu der raschen Wiedertrennung. Dagegen spricht nun die Beobachtung (vgl. Abb. 17, 18, 19), daß bei der Trennung eine geringere Anzahl neuer „Pseudoindividuen“ entsteht; als bei der Plasmogamie in das Aggregat eingegangen sind.

Zusammenfassung über die Einstellungen 63 und 54 (Abb. 2 bis 19): Auswertung der normalen Ortsbewegung von *Actinosphaerium* mittels Laufbild- und Teilbildanalyse.

Die nur unter Zeitraffung direkt sichtbare, mit Ortsverlagerung ver-

bundene Bewegung der Actinosphaerien wird durch sehr langsam erfolgende, ebenfalls nur bei Zeitraffung erkennbare geringfügige Bewegungen der Axopodien bzw. Axopodiengruppen bewirkt. Der Winkelausschlag eines einzelnen Axopods bei dieser „Ruderbewegung“ beträgt etwa  $8^{\circ}$ – $12^{\circ}$ .

Es kann an Hand des Zeitrafferlaufbildes nicht eindeutig festgestellt werden, ob es sich nur um eine Hinundherbewegung in einer Ebene oder um eine rotierende Bewegung handelt, bei der das Axopod einen Kegelmantel beschreibt. Es bleibt zunächst auch noch ungeklärt, auf welche Weise die Bewegung eines einzelnen Axopods zustande kommt.

Über die gesamte Bewegungskorrelation der Axopodien, als Summation der Einzelbewegungen der zahlreichen Axopodien zur gerichteten Gesamtbewegung des *Actinosphaerium*, kann vorläufig noch nichts ausgesagt werden.

Die Art der Bewegung der Actinosphaerien wird wesentlich beeinflusst durch die „Vorspiele“ und die wirkliche Ausführung einer Plasmogamie, wie durch die Teilbildanalyse festgestellt werden konnte. Nur vor und während einer Plasmogamie werden die charakteristischen „Spiralbewegungen“ ausgeführt. Die im Bildfeld gleichzeitig vorhandenen Tiere führen zu gleichen Zeiten Bewegungen nach fast allen Richtungen aus. „Richtungsrosetten“ zeigen an zwei Beispielen die Häufigkeit der eingeschlagenen verschiedenen Richtungen während der Versuchsdauer.

Weg-Zeit-Kurven lassen erkennen, daß zu Versuchsbeginn fast alle Versuchstiere eine annähernd gleiche, geringe Geschwindigkeit aufweisen. Je nach dem Verhalten zu anderen Actinosphaerien ändert sich im Laufe der Versuchszeit die Geschwindigkeit in der für das jeweilige Verhalten typischen Weise.

Das Zeitrafferlaufbild zeigt in mehreren Fällen, daß der lebende Inhalt von Cysten innerhalb der Cystenhülle rotierte. Über das Zustandekommen einer derartigen Bewegung läßt sich noch nichts Sicheres sagen.

## 2. Kontraktile und Nahrungsvakuolen

### a) Kontraktile Vakuolen

Die kontraktile Vakuolen von *Actinosphaerium* treten offenbar nicht in streng gesetzmäßiger Anzahl auf; nur an sehr großem Material könnte man eine gegebenenfalls vorliegende Korrelation zwischen der Größe des Tieres und der Zahl der funktionierenden kontraktile Vakuolen feststellen. Hierbei müßte selbstverständlich berücksichtigt werden, aus wie vielen „Tieren“ sich ein großes *Actinosphaerium* infolge etwa vorausgegangener Plasmogamien zusammensetzt, was wohl kaum ohne genaue korrelative Untersuchungen — vielleicht unter Berücksichtigung der Anzahl der Kerne — möglich sein wird.

Eine kontraktile Vakuole umfaßt bei *Actinosphaerium* die Breite mehrerer Flüssigkeitsvakuolen des Ektoplasmas. Ihr Durchmesser in radiärer Richtung erreicht im gefüllten Zustande der Vakuole, kurz vor der Entleerung, beinahe den Wert der Dicke des Ektoplasmas. Von irgendwelchen

zuführenden Kanälen ist nichts zu beobachten. Die allmähliche Füllung und Entleerung der Vakuole bietet unter Zeitraffung keine Besonderheiten, im Gegensatz zu *Actinophrys sol*. Nach Thompson (1942) kann irgendeiner der „clear spaces“ der ektoplasmatischen Schaumstruktur eine kontraktile Vakuole sein, d. h. ein Flüssigkeitströpfchen, dessen Oberflächenspannung sich im „unstabilen Gleichgewicht“ befindet; es ist fähig, vollkommen zu verschwinden, so daß die genau abgegrenzte Außenlinie der Vakuole plötzlich nicht mehr sichtbar ist.

Bei diesem Heliozoon wölbt sich die kontraktile Vakuole erheblich weiter distad vor und bildet eine prall gefüllte Halbkugel. Bei der Entleerung wird die Vakuolenwandung an dem am weitesten distal gelegenen Punkt durchbrochen und die Flüssigkeit spritzt förmlich heraus. Die zerrissenen Teile der Vakuolenwandung werden durch den Flüssigkeitsstrom nach außen umgebogen. Die übrigen unverletzten Teile der Wandung kollabieren proximad und legen sich der Oberfläche des Tieres dicht an. In dieser Phase „verheilt“ offenbar die zerrissene Öffnung wieder. Sobald die Neufüllung beginnt, ist nichts mehr von der temporären Öffnung zu bemerken. Die Entleerung scheint bei *Actinophrys sol* immer an der gleichen Stelle der Vakuolenwand vor sich zu gehen; der Vorgang erweckt wenigstens einen durchaus regelmäßigen Eindruck, vor allem auch die feineren Einzelheiten an der Einreißstelle. Der Zeitrafferfilm, der den Zerreißvorgang schnell aufeinander folgen läßt, ermöglicht das Erkennen des regelmäßigen Rhythmus bei der Entleerung auf eine wesentlich deutlichere Weise als die einfache subjektive Beobachtung mit ihren langen Zwischenpausen. Die Einreißstelle scheint in gewissem Umfange präformiert zu sein.

Bei *Actinosphaerium eichhorni* ist bei der Entleerung einer kontraktilen Vakuole eine derartige präformierte Einreißstelle nicht wahrnehmbar. Die gesamte vorgewölbte Wandung der Vakuole kollabiert und verschwindet bei ihrer Berührung mit der Oberfläche des Tieres für die weitere Beobachtung. Es ist auch im Zeitrafferlaufbild nicht festzustellen, an welcher Stelle die Vakuole entleert wird. (Leider gingen die Zeitrafferfilmaufnahmen vom Entleerungsmechanismus der kontraktilen Vakuole bei *Actinophrys sol* auch infolge Kriegseinwirkung verloren, bevor eine teilbildanalytische Auswertung vorgenommen werden konnte.)

#### b) Nahrungsvakuolen

Da die Größe der Beuteobjekte in weitem Umfange schwankt, sogar fast den Durchmesser des *Actinosphaerium* erreichen kann, schwankt die Größe der Nahrungsvakuolen entsprechend, im Gegensatz z. B. zu den Ciliaten, bei denen die Weite des Cytostom den Umfang der Nahrungsobjekte bestimmt. Bei derartigen Formen kann wegen des im allgemeinen gleichbleibenden Durchmessers der Nahrungsvakuolen ein mehr oder weniger geregelter Transport der verdauenden Vakuolen durch langsame Strömungen im Cytoplasma stattfinden, bis zur Abgabe der unbrauchbaren Reste durch die Cytopyge.

Als Rhizopod ohne äußere Skelettelemente ist *Actinosphaerium* in der Lage, an jeder Stelle der Körperoberfläche — mit Ausnahme der Orte der kontraktilen Vakuolen — Beuteobjekte aufzunehmen (s. III, 5).

Eine Umherbewegung kleiner Nahrungsvakuolen wurde auch unter Änderung des Zeitmomentes nicht beobachtet. Bei der Plasmogamie von zwei Partnern, von denen jeder eine sehr große Nahrungsvakuole aufwies, konnte unter Zeitraffung die Verschmelzung dieser beiden Vakuolen während der Endphase der Plasmogamie (beginnende Abrundung) beobachtet werden (s. Einstellung 51, Abb. 20).

Abb. 20 a zeigt die nahezu beendete Plasmogamie der Partner A und B. Die Maße der großen Vakuolen sind: In A:  $85\ \mu$ , in B:  $105/110\ \mu$ . Der Abstand der Vakuolen beträgt  $52\ \mu$ ; er wird nach  $11^m\ 24^s$  überbrückt: die beiden

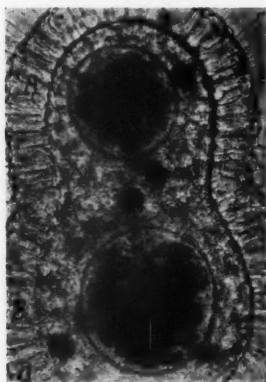


Abb. 20. a: Fast beendete Plasmogamie zweier Actinosphaerien (A und B); jeder „Partner“ führt im Entoplasma eine große Nahrungsvakuole. Der zwischen den beiden Nahrungsvakuolen in a vorhandene Abstand von  $52\ \mu$  wird innerhalb von  $11^m\ 24^s$  überbrückt.

Nahrungsvakuolen berühren sich in einem Punkte. Die Mikrodynamik der Annäherung, Berührung und Verschmelzung ist schwierig zu deuten; es entsteht zwangsläufig wieder die Frage: „Wer bewegt wen?“ Das Zeitrafferlaufbild läßt mit Sicherheit erkennen, daß sich nicht etwa die eine Nahrungsvakuole „auf die andere zu bewegt“ und mit ihr verschmilzt. Die Bewegung beider Vakuolen aufeinander zu erfolgt mit gleichförmiger Geschwindigkeit. In Abb. 20 a ist A + B noch in der Mitte leicht eingeschnürt; zur Zeit der Berührung der beiden Nahrungsvakuolen ist diese „Verschmelzungsfurche“ infolge der Abkugelungsvorgänge fast ganz verstrichen: die Entoplasmazone zwischen den Vakuolen hat sich stark verbreitert, und es ist möglich, daß infolge des Auseinanderweichens des entstehenden Doppeltieres A + B in der mittleren Region die beiden Nahrungsvakuolen passiv einander genähert werden. Ob diese Einwirkung dazu ausreicht, den Anfangsabstand von  $52\ \mu$  zu überbrücken, kann nicht mit Sicherheit entschieden werden. Es werden vielleicht noch sehr langsame Bewegungen im Entoplasma hinzukommen, die

selbst unter Zeitraffung nicht sichtbar werden. Die Bewegungen der beiden Nahrungsvakuolen aufeinander zu wäre der Indikator dieser in diesem Falle zentral gerichteten hypothetischen langsamen Strömungen im Entoplasma. Die beiden großen Vakuolen ändern im Laufe ihrer passiven Annäherungsbewegungen ihre Gestalt, was aus den nebenstehenden Zeitangaben und Maßen hervorgeht.

Vom Beginn der Verschmelzung ab ändert die Nahrungsvakuole von B ihre Lage in der ehemaligen Region von A im Sinne einer Näherung an die etwas kleinere Vakuole von A nicht mehr, was leicht durch direkte Messungen der Abstände der Vakuolenwand von der Grenze Ekto-Entoplasma festgestellt werden kann. Im Augenblick der Berührung der beiden Nahrungsvakuolen zeigt die kleinere im ehemaligen A eine Abplattung; sie erscheint elliptisch im optischen Schnitt, und zwar steht die große Achse

senkrecht zur Längsausdehnung des Doppeltieres A + B. Diese Abplattung bei der Berührung mit der größeren Nahrungsvakuole ist von Interesse, wenn man aus ihr auf die mikrodynamisch wirksamen Kräfte Schlüsse zieht. Es ist anzunehmen, daß eine derartige große Nahrungsvakuole einen gewissen Turgor aufweist; dies geht auch schon daraus hervor, daß bei der Annäherung der beiden Vakuolen zwischen ihnen liegende kleinere Nahrungsvakuolen auseinandergedrängt werden. Die Abplattung zur elliptischen Gestalt (im optischen Schnitt) spricht vielleicht für die oben geäußerte Ansicht, daß die Nahrungsvakuolen in diesem Falle infolge des „Abkugelungsbestrebens“ des entstehenden Doppeltieres (Auseinanderweichen in der Region der „Vereinigungsfurche“) einander genähert werden zum mindesten, daß dieser Vorgang mit zur Näherung beiträgt.

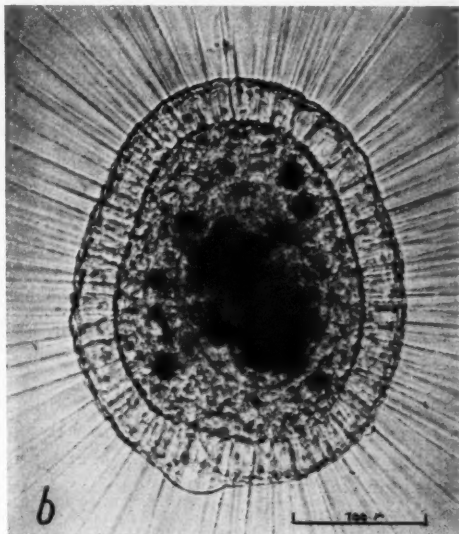


Abb. 20. b: Plasmogamie beendet, desgleichen die Verschmelzung der beiden großen Nahrungsvakuolen zu einer Nahrungsvakuole von  $112/131 \mu$ . Aus einer Mikrozeitraffer-Filmaufnahme.

Der Verschmelzungsvorgang der Nahrungsvakuolen ist nicht mehr und nicht weniger schwer in seinen mikrodynamischen Einzelheiten zu verstehen als die Plasmogamie der „Partner“ A und B. Die Wandungen (der Ausdruck „Membran“ wird in diesem Zusammenhang absichtlich vermieden) der beiden Nahrungsvakuolen berühren sich zunächst punktförmig;

Zeit	Maße der Nahrungsvakuolen:		Abstand
	Von A	Von B	
Ausgangslage in Teilbild a . . . . .	$85 \mu$	$105/110 \mu$	$52 \mu$
3 <sup>m</sup> 48 <sup>s</sup> später . . . . .	$85 \mu$	$101/118 \mu$	$52 \mu$
5 <sup>m</sup> später . . . . .	$85 \mu$	$102/110 \mu$	$52 \mu$
2 <sup>m</sup> 36 <sup>s</sup> später . . . . .	$73/94 \mu$	$105/108 \mu$	Berührung!
1 <sup>m</sup> 14 <sup>s</sup> später . . . . .	$78/91 \mu$	$103/108 \mu$	Beginn der
1 <sup>m</sup> 41 <sup>s</sup> später . . . . .		$111/152 \mu$	Verschmelzung der
1 <sup>m</sup> 14 <sup>s</sup> später . . . . .		$116/140 \mu$	Nahrungsvakuolen
1 <sup>m</sup> 2 <sup>s</sup> später . . . . .		$119/135 \mu$	
Teilbild b (19 <sup>m</sup> 54 <sup>s</sup> seit a) . . . . .		$112/131 \mu$	



dann werden sie in einer kleinen Kreisfläche „aneinandergedrückt“, innerhalb deren Bereich also eine Wandungsduplikatur vorliegt. Was sich nun in der Region dieser kreisförmigen Fläche — die je nach dem Turgor, der in den Vakuolen herrscht, dem „Druck“, der die Nahrungsvakuolen aneinanderpreßt und der Elastizität der Wandung verschieden groß sein kann (im Minimalfall nahezu punktförmig) — wirklich abspielt, entzieht sich zunächst unserer Beobachtung. Zuerst werden die beiden „Lamellen“ oder „Grenzschichten“ miteinander flächenhaft verschmelzen unter Übergang in einen weniger gelatinisierten Zustand. Dann wird in der Mitte der Kontaktfläche infolge konzentrischen Auseinanderweichens des flüssiger gewordenen Materials eine Öffnung entstehen, die sich etwa wie eine sich „öffnende Irisblende“ vergrößert. Hiedurch kommen die Inhalte der beiden Nahrungsvakuolen in direkte Berührung miteinander, die flüssigen Komponenten können sich nunmehr vermischen. Die geformten, festen Nahrungsreste bleiben, wie Zeitrafferfilmaufnahmen beweisen, noch sehr lange im Areal ihrer ehemaligen selbständigen Nahrungsvakuole liegen. Auch bei der Verschmelzung der beiden Nahrungsvakuolen bildet sich, wie bei der Plasmogamie, eine „Vereinigungsfurche“, die allmählich verstreicht, wodurch eine Abkuglung des Verschmelzungsproduktes zustande kommt.

Das in der Mitte der Kontaktkreisfläche sich verflüssigende „Doppelwandungsmaterial“, in dem die erste Öffnung und damit eine Verbindung der beiden Nahrungsvakuolen entsteht, kommt in die Peripherie der nunmehr vorhandenen kreisförmigen Öffnung zu liegen; dort bewirkt es wahrscheinlich die „Verlötung“ der Ränder der Wandungen der verschmelzenden Nahrungsvakuolen. Wie das weitere Auseinanderweichen dieser Ränder und die damit verbundene Vergrößerung der kreisförmigen Öffnung im einzelnen mikrodynamisch vorzustellen ist, kann vorerst noch nicht näher erörtert werden.

Betont sei nochmals, daß sich der Verschmelzungsvorgang bei der Plasmogamie in seinen Phasen in manchen Punkten mit der Vereinigung der großen Nahrungsvakuolen vergleichen läßt, wenn auch hier flüssigkeitsgefüllte, kugelige, dem Entoplasma eingelagerte Gebilde vorliegen und dort komplizierte grobvakuolisierte Ektoplasmastrukturen zunächst einmal zur Vereinigung gelangen müssen und dann erst die Entoplasmaanteile der Zellen.

Über die physiologische Bedeutung der Vereinigung zweier großer Nahrungsvakuolen nach einer fast beendeten Plasmogamie von zwei Partnern läßt sich ohne eine größere Reihe von Zeitrafferfilmaufnahmen gleicher oder ähnlicher intrazellulärer Vorgänge noch nichts Sicheres aussagen. Beide Nahrungsvakuolen scheinen in der gleichen Phase — kurz vor der Entleerung — zu stehen. Eine Defäkation während einer Plasmogamie wurde bisher von uns nicht beobachtet. Die Entleerung einer großen Nahrungsvakuole bedeutet für den Zellkörper von *Actinosphaerium* einen beachtlichen „Eingriff“ in die normalen, ungestörten Struktureigentümlichkeiten des Cytoplasma, hauptsächlich beim Durchtritt der Nahrungsvakuolen durch das Ektoplasma (s. III, 4, Abb. 22 a—l, Defäkation). Das durch die Vereinigung von A und B entstandene Doppeltier A+B (Abb. 20 a),



das nach der Abrundung  $243 \times 299 \mu$  mißt (Abb. 20 b), müßte kurz nacheinander zweimal die Abstoßung großer Mengen von Verdauungsresten und deren Durchtritt durch das Ektoplasma durchmachen, was eine wesentlich größere und anhaltendere Störung der Oberflächenstrukturen bedeutet, als wenn eine etwas größere Nahrungsvakuole zur Defäkation gebracht wird. Die Inhalte der beiden Nahrungsvakuolen sind: Nahrungsvakuole von A:  $0,0003 \text{ mm}^3$ , von B:  $0,00065 \text{ mm}^3$ . Nach der Verschmelzung zu A + B:  $0,0009 \text{ mm}^3$ . Ob bei einer Plasmogamie auch große Vakuolen mit auf verschiedenen Phasen der Verdauung befindlichem Inhalt zur Vereinigung gebracht werden, wurde noch nicht festgestellt.

### 5. Aufnahme eines Beuteobjektes

Früheren Beobachtern fiel bereits auf, daß aktiv bewegliche Beuteobjekte einen bestimmten Anprall gegen die Axopodien ausführen müssen, damit sie das Oberflächenplasma an der Anprallstelle veranlassen, in einen klebrigen Zustand überzugehen und damit die Einverleibung einzuleiten. Auch unbrauchbare, völlig unverdauliche Teilchen, die durch einen Zufall stoßartig an die Pseudopodien herangebracht werden, bewirken diese Struktur- und Zustandsänderung an den berührten Teilen der Axopodien. Trotzdem ist nach Ansicht der älteren Autoren eine gewisse Auswahl bei der Nahrungsaufnahme möglich. Leise Berührung der Axopodien bewirkt kein Klebrigwerden; man beobachtet häufig, daß kleine Ciliaten oder Flagellaten zwischen den Strahlen der Axopodien umherschweben, diese sogar leicht streifen, ohne dabei festzukleben. Penard (1889) beobachtete bei *Actinophrys sol*, daß die Beuteobjekte immer mit einer Plasmahülle umgeben sind; die Art der Nahrungsaufnahme hängt von der Größe des Beuteobjektes ab. Vom Ektoplasma können dabei sehr dünne „Plasmalappen“ ausgebildet werden, die im Querschnitt wie eine Urne aussehen. Axopodien in Berührung mit einem Beuteobjekt werden amöboid und zeigen keinen Achsenfaden mehr. Sie umhüllen die Beute völlig und „ziehen“ sie zum Ektoplasma, von dem Plasmastränge ausgehen können, die sich an der Umhüllung der Beute beteiligen. Allmählich wird ein Flüssigkeitshof in der Umgebung der Beute sichtbar; es kann auch Flüssigkeit des umgebenden Mediums mit eingeschlossen werden, jedoch nur bei kleinen Beuteobjekten.

Wesentlich ist, daß bereits Penard erkannt hat, daß die Axopodien bei *Actinophrys sol* aktiv die Beute heranziehen können unter Annahme einer mehr oder weniger amöboiden Gestalt, und daß ektoplastische Fortsätze den Vorgang unterstützen können. Diese Plasmafortsätze können auch ausgebildet werden, ohne daß ein Beuteobjekt in der Nähe ist. Auch Penard berichtet von seinem Objekt, daß der „Achsenfaden“ des Axopods fast immer unsichtbar ist.

Auf die alte Brandtsche (1878) Auffassung der Axopodien als „Stacheln“ aus organischer Substanz, die manches Richtige enthält, wird hier nicht näher eingegangen.

Unter Änderung des Zeitmomentes lassen sich im Zeitrafferlaufbild

eine Reihe von Beobachtungen an den mechanisch gereizten Zonen der Axopodien anstellen.

Zunächst ist festzustellen, daß die bei mechanischem Stoß auftretenden Veränderungen an einer mehr oder weniger scharf begrenzten Zone des Axopods auch eintreten können, wenn keinerlei mechanische Ursache erkennbar ist.

Wird ein Axopod mechanisch stark gereizt, so verliert die plasmatische Berührungszone fast unmittelbar nach dem „Stoßkontakt“ mit dem Beuteobjekt ihre glatte Oberflächenstruktur: sie wird „schrumpelig“ und wölbt sich in kleinen warzigen Erhebungen vor. (Es ist zu beachten, daß sich alle Ausdrücke, die Bewegungserscheinungen betreffen, im folgenden nur auf das beschleunigte Zeitrafferlaufbild beziehen!)

Durch Zusammenfließen dieser kleinen Plasmawülste und durch Zustrom aus direkt nicht gereizten Teilen des Axopods ober- und unterhalb der Reizstelle entstehen kleine lappen- oder lamellenförmige plasmatische Gebilde, die ständig eine wedelnde oder hin und her wogende Bewegung ausführen. Ohne Zeitraffung ist von irgendwelchen dynamischen Vorgängen bei direkter subjektiver Beobachtung nichts zu bemerken.

Allmählich werden die plasmatischen Wülste und Lamellen größer; sie bleiben schließlich nach einer hinneigenden Bewegung, die zur Berührung mit dem Beuteobjekt führt, an diesem haften oder „kleben“. Da dies von vielen Seiten her eintritt, können die „wedelnden“ Plasmalamellen sich über dem Beuteobjekt berühren, verschmelzen und bei geringer Größe des Objektes dieses vollkommen in dünner Schicht umhüllen. Bei größeren Beutetieren, z. B. Ciliaten, bleiben offenbar nach Eintritt der Lähmungserscheinungen nur einige dünne Plasmalamellen am Beutetier „kleben“, die genügen, um das gefangene Nahrungsobjekt zentripetal zur Oberfläche des *Actinosphaerium* infolge von Strömungserscheinungen hinzuführen. Werden zwei oder mehr Axopodien mechanisch durch Stoß oder Anprall gereizt (sicher vorhandene, eine gewisse Auswahl gewährleistende chemische Reize, die vom Beuteobjekt ausgehen, bleiben hier unberücksichtigt), so treten an allen Reizstellen die oben geschilderten temporären Plasmastrukturen auf. Blieb das Objekt in Oberflächennähe des *Actinosphaerium* „kleben“, also in der Zone der dicht nebeneinander stehenden dicken Basen der Axopodien, so werden wesentlich größere und flächenhaft ausgedehntere „Plasmalamellen“ ausgebildet, die die Beute rascher mit ihren „wedelnden“ Bewegungen bearbeiten können, als wenn das „Ankleben“ mehr distad vor sich geht.

Bei den Bewegungen der unregelmäßig gestalteten plasmatischen Lamellen, die auf Grund des Reizstoßes des Beutetieres aus dem nahezu glatten Oberflächenplasma der Axopodien hervorgehen, scheint ein gewisser Rhythmus vorzuliegen, daher wurde der Ausdruck „wedeln“ angewandt. Die Bewegungen erinnern an die rhythmisch schlagenden membranösen Pseudopodien bestimmter Typen von Amöbocyten (Kuhl 1937) aus der Coelomflüssigkeit von Echinodermen und polychaeten Anneliden, die ebenfalls unter Zeitraffung untersucht wurden. Bei diesen Amöbocyten sind

jedoch die sehr dünnen, völlig durchsichtigen Plasmamembranen wesentlich formkonstanter und ihre „Schläge“ verlaufen viel regelmäßiger als bei den stark metabolen, unregelmäßig gestalteten und viel kleineren temporären „Fangorganellen“ an den Axopodien von *Actinosphaerium eichhorni*.

Die Funktion ist bei den Coelomzellen mit membranösen Pseudopodien (Kuhl 1937, Abb. 3, 4, 6) und bei *Actinosphaerium* in mancher Hinsicht die gleiche: es sollen Fremdkörper in der Coelomflüssigkeit bzw. kleine Beuteobjekte gefangen, mit Plasmalamellen umhüllt und in den Zellkörper aufgenommen werden.

Derartige rhythmische Bewegungen dünner, hyaliner Plasma-gebilde treten immer wieder bei der beschleunigten Darstellung von Zellvorgängen im Zeitrafferlaufbild in Erscheinung; so z. B. auch bei der „Teilungsunruhe“ während der Furchung der Eier verschiedener Tiere aus systematisch oft weit auseinanderliegenden Gruppen. Besonders eindrucksvoll erscheinen diese „Rhythmen“ im Zeitrafferlaufbild bei den Blastomerenteilungen der Eier von *Psammethinus miliaris* Gmel. (W. und G. Kuhl 1945, Neudruck 1948, Abb. 14), *Pomatoceros triqueter* L. („Dreikantwurm“; polychaeter, sessiler Annelide) u. a. Arten.

Betont sei, daß von diesen rhythmischen Schwingungen von Plasma-Extrusionen an der Oberfläche von Furchungszellen vor, während und nach der Teilung bei normalem Zeitmoment ebensowenig wahrgenommen werden kann wie bei den mechanisch gereizten Axopodien von *Actinosphaerium eichhorni*. Es liegt noch zu geringes Zeitrafferfilmmaterial über diese zellulären Oberflächenerscheinungen vor, vor allem noch kein Versuch zur experimentellen Beeinflussung dieser Vorgänge, um Näheres aussagen zu können.

Jedenfalls scheint die Fähigkeit bestimmter Cytoplasmaanteile, bei Hervorragen über die Zelloberfläche — oder im Falle von *Actinosphaerium* über die Axopodien-Oberfläche — langsam rhythmisch zu schwingen, weitverbreitet zu sein. Über etwaige Beziehungen zum „Kinoplasma“ lassen sich noch keine Aussagen machen.

Bei *Actinosphaerium eichhorni* liegt es im Rahmen der erblich gegebenen „Reaktionsnorm“ der Axopodien, auf kräftige Berührungs- oder Stoßreize hin mit einer lokalen Umformung und Strukturänderung des Plasma zu antworten und das strukturell veränderte Plasma in Schwingungen oder wedelnde Bewegungen zu setzen, die eine deutlich erkennbare Funktion aufweisen, nämlich das Beuteobjekt zu berühren, an ihm festzukleben, es möglichst ganz einzuschließen und durch zentripetal gerichtete Strömungen zur Ektoplasmaoberfläche zu befördern. Bei den freien Coelomzellen der oben genannten Arten ist die Funktion ebenfalls deutbar; hingegen steht bei den Plasma-Extrusionen an den Blastomeren in der Teilungsphase eine funktionelle Deutung noch aus.

Wie erfolgt nun die Aufnahme des Beuteobjektes in das Ektoplasma? Durch die zentripetalen Strömungen bzw. durch zentripetal gerichtetes „Wedeln“ der Plasmalamellen gelangt die Beute schließlich an die „Pellucula“. Da in zentripetaler Richtung die radialen Axopodien einen geringer werdenden Zwischenraum untereinander aufweisen, können die Beute-

objekte nicht ohne weiteres zur Oberfläche des Sontentierchens gelangen: die basalen Teile der Axopodien müssen irgendwie ausweichen. Unter Zeitraffung bemerkt man auf dieser Phase der Nahrungsaufnahme meist eine geradezu tumultarische Bewegung der das Objekt bereits einhüllenden Plasmamasse. Offenbar werden die zum Ausweichen gezwungenen basalen Teile der Axopodien ebenfalls strukturell und funktionell sehr stark umgebildet unter Übergang in eine Phase der Verflüssigung. Der distale Teil der in der Aufnahmezone liegenden großen Flüssigkeitsvakuolen, der ja hier auch die „Pellicula“ bildet, ist infolge der — unter Zeitraffung — sehr lebhaft erscheinenden Bewegungen der die Beute umhüllenden Plasmamasse nicht mehr deutlich zu beobachten. Das Beuteobjekt wird erst wieder sichtbar, wenn es in der Ektoplasma-region erscheint und durch sie hindurch „bewegt wird“. Es ist in diesen Fällen selbstverständlich, daß die Bewegung der Beute zum Entoplasma, dem Orte der Verdauung, eine passive ist. Nach Gruber (1886) soll bei der Bildung von Nahrungsvakuolen ein Tropfen Wasser „mitgerissen“ werden, der auf das den Nahrungskörper umgebende Protoplasma „erstarrend“ wirkt, wodurch jede Nahrungsvakuole mit einer „Ectosarcschicht“ ausgekleidet erscheint.

Das Zeitrafferlaufbild zeigt den Vorgang des Durchtritts der Beute durch das grobvakuolisierte Ektoplasma folgendermaßen: Mit gleichbleibender Geschwindigkeit „gleitet“ das nun wieder in seinem Kontur deutlicher umrissene Beuteobjekt zwischen den Flüssigkeitsvakuolen hindurch, und zwar folgt es den durch die Wabenwände gegebenen „Geleisen“. Die polyedrischen Vakuolen werden hiebei, entsprechend der Größe der Beute, zur Seite gedrückt und öfter stark verformt. „Hinter“ dem Objekt wird die vorherige Anordnung der Waben wiederhergestellt.

Über die bewegenden „Kräfte“ gibt auch das beschleunigte Laufbild zunächst noch keine Auskunft.

Es entstehen folgende Fragen:

1. Bleibt das Beuteobjekt während des Durchganges durch das Ektoplasma von einer dünnen Plasmasschicht umgeben, die aus verflüssigten und verschmolzenen Teilen der plasmatischen Oberflächenschicht der Axopodien besteht? Mit Sicherheit ist diese Frage nicht zu entscheiden, da bisher eine optisch klar von den Wandungen der Flüssigkeitsvakuolen unterscheidbare plasmatische Hülle um das einverleibte Objekt nicht im Laufbild beobachtet werden konnte. Es ist wohl anzunehmen, daß die von den Axopodien stammende, die Beute mehr oder weniger ganz umschließende plasmatische Schicht beim Eintritt in das Ektoplasma sozusagen „abgestreift“ wird. In einzelnen läuft dieser zunächst einfach anmutende, jedoch in Wirklichkeit recht verwickelte Vorgang vielleicht wie folgt ab.

Ist die ständig in Umlagerung befindliche, von den Axopodien gelieferte Plasmamasse zusammen mit dem Beuteobjekt an der Begrenzungsschicht Pellicula/Wasser (Außenmedium) infolge zentripetaler Strömungen und Schwingungen der Plasmalamellen angelangt, so wird auch in ihrem Wir-

kungsbereich der Gelzustand der Pellicula derart verändert, daß eine Verflüssigung eintritt. Der Pelliculabereich — es handelt sich „massenmäßig“ natürlich nur um äußerst geringfügige Plasmamengen — kann nunmehr mit dem von außen anströmenden Plasma + Beute verschmelzen, womit der Weg zum Ektoplasma freigegeben ist.

Da das „Hüllplasma“ der Beute, wie der Zeitrafferfilm eindeutig zeigt, dynamisch gesprochen sehr „agil“ ist, läßt sich vorstellen, daß es in der Lage ist, die Beute aktiv in das Ektoplasma hineinzudrücken oder „hineinzquetschen“. Das Hüllplasma bleibt dann zurück und die verflüssigte Pelliculazone kann wieder in den widerstandsfähigeren Gelzustand zurückkehren. Hierauf beginnt dann die Restitution der Axopodien im Fangbereich, d. h. das zentrifugale Abströmen des Plasmas auf sämtliche Axopodien, die am Beutefang beteiligt waren.

Unterdessen nimmt der Durchtritt der Beute durch die Rindenschicht (Ektoplasma) ihren Fortgang und es ergeben sich weitere Problemstellungen.

## 2. Auf welche Weise erfolgt der Durchtritt der Beute durch das Ektoplasma?

Läge bei *Actinosphaerium* ein hyalines Ektoplasma vor, das Strömungen und Bewegungen aufweist (wie bei Amöben oder Thecamöben), so könnte man auch ohne Zeitraffung die „Mitnahme“ des einverleibten Beuteobjektes direkt beobachten.

Die grobvakuolierte Ektoplasmastruktur von *Actinosphaerium* erschwert die Deutung der feineren Dynamik der Nahrungsaufnahme bedeutend, da diese Struktur, wie der Zeitrafferfilm zeigt, sehr beständig ist. Nie wurde beim Eintritt des Nahrungskörpers in das Ektoplasma beobachtet, daß zwei oder mehr Flüssigkeitsvakuolen infolge dieses Eindringens, nach Platzen ihrer Wandungen, zu einer größeren Vakuole vereinigt wurden, und daß das Beuteobjekt, wenn es sehr klein war, in die Flüssigkeit dieser Vakuole hineingelangte.

Die Nahrungskörper nehmen ihren Weg immer längs der Alveolenwände. Diese Tatsache ist leichter ausgesprochen als verstanden!

Wenn der Übertritt in den distalen Teil des Ektoplasma durch die temporär und lokalisiert verflüssigte „Pellicula“ erfolgt ist, wie wir annehmen infolge aktiver Einwirkung des von den Axopodien stammenden Hüllplasmas, so „gleitet“ das Beuteobjekt (wiederum nach Beobachtungen des Zeitrafferlaufbildes) mit völlig gleichbleibender Geschwindigkeit zwischen den Plasmawänden der Alveolen hindurch zur Grenze Ekto-Entoplasma.

Während beim Antransport des Beuteobjektes zur Zelloberfläche die Ursachen der Fortbewegung der Beute in der oben geschilderten aktiven Tätigkeit des zum Hüllplasma und zu den rhythmisch schwingenden Plasmalamellen umgeformten Axopodienplasma zu suchen sind und die Wirkungsweise dieser zeitlichen Organelle z. T. direkt im Zeitrafferlaufbild beobachtet werden kann, ist das bei der Weiterleitung durch das Ektoplasma nicht der Fall. Wie so häufig bei der dynamisch ein-



gestellten Arbeitsweise, so tritt auch hier bei diesem so „einfach“ erscheinenden Vorgang der Nahrungsaufnahme bei einem vermeintlich durch und durch bekannten „Kursobjekt“ wieder unsere alte Frage auf: „Wer bewegt wen?“

Aus der festgestellten Formkonstanz der ektoplasmatischen Flüssigkeitsvakuolen und aus der polyedrischen Gestalt der einzelnen „Alveolen“ kann geschlossen werden, daß das Gefüge der großen „Waben“ von der „Pellicula“ fest zusammengehalten wird. (Beabsichtigte Versuche mit dem Mikromanipulator über den Anteil der „Pellicula“ am Zusammenhalt der großen Flüssigkeitsvakuolen konnten leider noch nicht durchgeführt werden.)

Häufig sind — bis auf die mehr oder weniger tangential eingestellten proximalen und distalen Querwände — die Plasmawände der großen Alveolen radiär oder schräg-radiär angeordnet. Die Alveolen fügen sich dann nebeneinander in der Rindenschicht ein wie die abgestumpft-pyramidenförmig zubehauenen Steine eines Gewölbes. Wie die Gewölbesteine unter dem Druck des darüberlastenden Mauerwerks stehen, so erfahren die Flüssigkeitsvakuolen offenbar einen „Druck“ durch die kugelförmig sie umspannende und zusammenhaltende „Pellicula“. Jeder Vergleich hat seine Schwächen, so auch dieser; denn viele Alveolenwände verlaufen weder radial noch tangential, alle aber verraten ihre „Spannung“ durch ihre flächenhafte, ebene Ausbreitung und die scharf ausgeprägten Winkel und Ecken, die sie miteinander bilden.

Wie bereits betont, folgen alle Beuteobjekte beim Durchtritt durch das Ektoplasma, sofern sie relativ klein sind, den plasmatischen Vakuolenwänden, oder sie drängen die Flüssigkeitsvakuolen mehr oder weniger stark zur Seite, aber auch dann in der vorgezeichneten „Bahn“ der Alveolenwände, die offenbar die *loci minoris resistentiae* darstellen.

Die Aufnahme und der Durchgang sehr kleiner Nahrungspartikel durch das Ektoplasma erinnert äußerlich an den bekannten Versuch, eine Schrotkugel in eine gerade z. T. entleerte Bierflasche, deren oberer Raum mit großen „Luft-Bier-Vakuolen“ angefüllt ist, zu werfen und zu beobachten, wie selbst bei einer Bleikugel von mehreren Millimetern Durchmesser die großen Schaumwände nicht zerreißen. Die Kugel folgt dem Zickzack der Wände und der Wirkung der Schwerkraft. Spaltet die Bleikugel dabei die hauchdünne Flüssigkeitslamelle vor sich auf und läßt hinter sich die Lamellenanteile wieder zusammenfallen? Wahrscheinlich ist dies der Fall.

Bei der Nahrungsaufnahme von *Actinosphaerium eichhorni* liegt eine ähnliche Fragestellung vor; auch sie wird wohl dahin zu beantworten sein, daß das Beuteobjekt die Plasmalamelle einer Flüssigkeitsvakuole im Ektoplasma vor sich aufspaltet und hinter sich wieder schließt.

Vergegenwärtigt man sich das Zustandekommen der polyedrischen ektoplasmatischen Alveolen, so ergibt sich die Tatsache, daß hier jede optisch einheitlich erscheinende Lamelle aus zwei „Grenzschichten“ besteht. Die zunächst kugeligen, sich nicht berührenden Flüssigkeitstropfen werden durch Wasseraufnahme von außen größer und größer, bis sie sich schließlich berühren und das geringfügige, noch zwischen ihnen befindliche Cytoplasma polyedrisch abflachen.



(Aus äußeren Gründen konnte die Entstehung der grobvakuolisierten Ektoplasmastruktur bei *Actinosphaerium* bisher noch nicht unter Zeitraffung und unter experimenteller Beeinflussung des Außenmedium gefilmt werden.)

Die zur Berührung gekommenen „Grenzschichten“ scheinen sich nicht völlig zu vereinigen, sondern eine gewisse Selbständigkeit zu bewahren, die sich zwar nicht mehr optisch äußert, aber in der Trennungsfähigkeit und Spaltbarkeit noch ihren Ausdruck findet.

Die Frage nach den Kräften, die eine zentripetal gerichtete Bewegung des Nahrungskörpers bewirken, kann auf Grund der Beobachtung des Zeitrafferlaufbildes noch nicht beantwortet werden. Sicher ist, daß das Zurseiteschieben der Flüssigkeitsvakuolen im Bereiche des Durchtrittes durch das Ektoplasma einen nicht unerheblichen Kraftaufwand erfordert. Da dieser nicht vom meist schon unbeweglich gewordenen Beuteobjekt ausgehen kann (es werden ja auch unverwendbare, tote Teilchen u. U. aufgenommen!), muß die passive „Durchschleusung“ durch das Ektoplasma vom *Actinosphaerium* selbst ausgehen. Im Ektoplasma finden nun, wie der Zeitrafferfilm immer wieder in eindeutiger Weise erkennen läßt, keine Bewegungen statt, die zu einer zentripetalen Verlagerung der aufgenommenen Beute führen können.

Es bliebe die Möglichkeit, daß die aus lebendem Ektoplasma bestehenden Wände der Alveolen infolge der Berührung mit dem Beuteobjekt, vor allem wegen der theoretisch zu fordernden Aufspaltung der Wandlamelle in die beiden „Ursprungslamellen“, eine nur im engen Bereiche des Beuteobjektes wirksame „aktivierte“ Phase durchlaufen, ähnlich dem Verhalten des Axopodienplasma nach stoßartiger Berührung durch das Beutetier („Hüllplasma“, s. o.). „Aktivierte Phase“ würde bedeuten, daß die das Objekt in äußerst dünner Schicht umgebenden beiden Anteile der gespaltenen Wandlamelle der Flüssigkeitsvakuole aktive Bewegungen auszuführen vermögen im Sinne einer möglichst schnellen Wiedervereinigung hinter dem Beuteobjekt. Als gedachter Modellversuch kann folgende Anordnung dienen. Zwischen zwei fest aneinander adhärierende dünne Gummilamellen wird eine Glaskugel gebracht. Bei Druck auf die mit den beiden Pfeilen gekennzeichneten Stellen oberhalb der Kugel (Abb. 21) bewegt sich diese abwärts und treibt die beiden Gummilamellen vor sich auseinander, während sich hinter ihr die Lamellen wieder zusammenschließen. Auf den vorliegenden Fall, mit der notwendigen Vorsicht angewandt, kann man sich den Durchtrittsvorgang etwa folgendermaßen klarmachen:

a) Das aus Axopodienplasma umgeformte „Hüllplasma“ des Beuteobjektes preßt aktiv die Beute durch die ebenfalls lokal veränderte und in verflüssigten Zustand übergegangene „Pellicula“ hindurch zwischen die sich unter dem Druck des Objektes aufspaltenden beiden Lamellenanteile der nächstgelegenen Wand einer Flüssigkeitsvakuole.

b) Das „Hüllplasma“ wird dabei vom Beuteobjekt „abgestreift“ oder es kann sich wohl auch aktiv distad zurückziehen, zu den beteiligten Axopodien zurückfließen und „hinter“ sich die verfestigte „Pellicula“ in der Zone des Durchtritts der Beute wiederherstellen.

c) Der vom „Hüllplasma“ befreite Nahrungskörper befindet sich nunmehr zwischen den aufgespaltenen Lamellenanteilen zweier, oder, wenn er groß ist, mehrerer zur Seite gedrängter Vakuolen. Der ihm vom „Hüllplasma“ erteilte, proximad wirksame „Bewegungsimpuls“ reicht nun wahrscheinlich nicht annähernd aus, die Beute durch das gesamte Ektoplasma hindurch zu „drücken“. Man muß sich ja immer wieder vergegenwärtigen, daß alle diese Vorgänge so langsam ablaufen, daß sie ohne Zeitraffung subjektiv überhaupt nicht als Bewegung wahrgenommen werden können. Der Ausdruck „Bewegungsimpuls“ bezieht sich also wiederum nur auf die Beobachtung unter Änderung des Zeitmomentes.

d) Die Heranziehung des Modellversuches mit der Glaskugel zwischen zwei Gummilamellen stößt nun auf folgende Schwierigkeiten. (In Abb. 21 ist das Schema des Modellversuches [mittlere Lamelle mit schwarzer Kugel] kombiniert mit den Lageverhältnissen im Ektoplasma von *Actinosphaerium*.) Der Druck bei C und D, der die Kugel zum Ausweichen und die Doppellamelle zum Aufspalten bei A und B bringt, erfolgt durch zwei Finger der Hand, das Auseinanderweichen bei A und B mechanisch durch die Kugel selbst. Übertragen auf das Beuteobjekt in der aufgespaltenen Wand zweier benachbarter ektoplasmatischer Alveolen, entsteht die Frage, wie hier im distalen Teil der gespaltenen Plasmalamelle (bei CD im Schema) eine größere Tendenz zur Wiedervereinigung der beiden Lamellenanteile zustande kommen kann, als der Wert des „Trennungswiderstandes“ bei AB beträgt. Außerdem ist zu beachten, daß die Zone AB nach dem Auseinanderweichen und dem Vorbeigleitenlassen des Beutekörpers funktionell zu CD werden muß, damit der Weitertransport gewährleistet wird. Jede Zone der lebenden Doppellamelle zwischen zwei Flüssigkeitsvakuolen müßte also nacheinander die Phasen 1, 2 und 3 durchlaufen; 1: Bereitschaft zur Aufspaltung, 2: Fähigkeit zur Dehnung der Lamellenanteile in tangentialer Richtung und 3: Fähigkeit zu aktivem Zusammenschluß der Lamellenanteile in Richtung der Pfeile.

Dieser funktionelle und morphologische (leider noch nicht direkt beobachtete) Phasenwechsel der schematisch dargestellten drei Extremwerte mit allen aus der Skizze ablesbaren Übergängen ist in seiner zentripetal ablaufenden Reihenfolge schwer vorstellbar, weil zu seinem Zustandekommen die kaum anders als aktiv anzunehmende Pressung bei 3 (Pfeile!) erforderlich wäre. Das mehr passive Auseinanderweichen bei 1 und die ebenfalls passive Dehnung bei 2 könnten aus der offenbar starken Elastizität der Plasmawand und ihrer beiden Komponenten verstanden werden.

Noch schwerer vorstellbar sind die das Beuteobjekt durch das Ektoplasma befördernden Kräfte, wenn dieses sehr umfangreich ist im Vergleich zur Dicke der gesamten Ektoplasmaschicht, z. B. wenn Ciliaten von der Größe eines *Paramecium* sich im dichten Hindernis der Axopodien gefangen haben. Wenn das Beutetier um ein Vielfaches größer ist als die größten Flüssigkeitsvakuolen des Ektoplasmas, so können die vorstehend gegebenen hypothetischen Darlegungen für kleine Nahrungskörper keine Geltung haben, weil ja eine Vakuolenwand nicht mehr die ganze Beute im Be-

reiche einer temporär aufgespaltenen Plasmalamelle zum zentripetalen Weitertransport aufzunehmen, geschweige denn nach den oben gegebenen Gesichtspunkten zu befördern vermag.

Auch bei großen Objekten beobachtet man nie, daß beim Durchtritt ektoplasmatistische Flüssigkeitsvakuolen zusammenfließen und verschmelzen infolge mechanischer Einwirkungen, die vom Beuteobjekt ausgehen. Auch hier werden die Alveolen — zum Teil sehr weitgehend — zur Seite gedrückt. Das Objekt folgt auch jetzt dem durch die plasmatischen Vakuolenwände vorgezeichneten Weg. Die Dynamik des Durchtritts großer Beutestücke läßt sich demnach zunächst noch weniger in ihren Einzelheiten verstehen und mikrodynamisch auf einfachere bewegungsphysiologische Komponenten zurückführen, als es bei den kleinen Objekten der Fall war.

Der Übertritt der Beute in das Entoplasma.

An der Grenze Ekto-Entoplasma angelangt, „gleitet“ (im Zeitrafferlaufbild) die Beute mit derselben gleichförmigen Geschwindigkeit in das stark granuliert Entoplasma hinein, die beim Durchtritt durch das Ektoplasma eingehalten wurde. Es läßt sich nicht das geringste Langsamerwerden in der Grenzzone beobachten; hier scheinen also keine besonders festen Gelstrukturen vorzuliegen, die zuerst umgewandelt und verflüssigt werden müßten.

Wie lange es im Durchschnitt dauert, bis das Beuteobjekt von einer sich optisch deutlich vom Entoplasma sich abhebenden kugeligen bis ellipsoidischen Nahrungsvakuole umgeben erscheint, kann noch nicht mit Sicherheit angegeben werden. Jedenfalls variiert diese Zeit sehr stark; sie ist offenbar auch abhängig vom Ernährungszustand des Tieres. Manche *Actinosphaerien* zeigen ein prall mit vielen kleinen und ein bis zwei großen Nahrungsvakuolen angefülltes Entoplasma.

Zeitrafferaufnahmen bei stärkerer Vergrößerung lassen erkennen, daß die Nahrungsvakuolen offenbar nicht durch Strömungen im Entoplasma umherbewegt werden. Die langsame Eigenbewegung des Tieres würde den Nachweis der passiven Nahrungsvakuolenbewegung durch Plasmaströmungen im Zeitrafferfilm keineswegs unmöglich machen (Teilbildanalyse!), da ja meist keine Rotation nachweisbar ist.

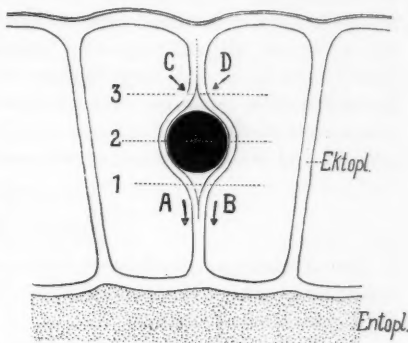


Abb. 21. Schematische Darstellung des Durchtritts eines Beuteobjektes (schwarz) durch das grobvakuolisierte Ektoplasma. Das aufzunehmende Objekt folgt einer radiär eingestellten Wand zwischen zwei Flüssigkeitsvakuolen, und zwar wird diese „Wand“ (entstehungsgemäß eine Duplikatur) in der Mitte vor dem Objekt „aufgespalten“ (A B) und hinter ihm wieder geschlossen (C D). 1, 2, 3: Drei Phasen des hypothetischen Vorganges. Ektopl.: Ektoplasma; Entopl.: Entoplasma.

Über eine Verschmelzung zweier großer Nahrungsvakuolen im Entoplasma während einer Plasmogamie zweier Partner wurde oben berichtet. Ob die großen Nahrungsvakuolen durch Vereinigung von mehreren oder vielen kleinen entstehen, oder ob sie immer nur um ein größeres Beuteobjekt gebildet werden, ist noch unsicher.

Aus den mitgeteilten Beobachtungen und den entwickelten hypothetischen Erörterungen zur Mikrodynamik der Nahrungsaufnahme ergibt sich die Schlußfolgerung, daß der sehr verwickelte Vorgang des Durchtritts eines Beuteobjektes durch die hierfür sehr ungeeignete grobvakuolisierte Ektoplasmastruktur in das Entoplasma, der mit gleichbleibender Geschwindigkeit erfolgt, mit den üblichen physikalischen Vorstellungen nicht verständlich gemacht werden kann. Selbst bei weitgehender Betonung der aktiven Mitwirkung des Cytoplasmas bleibt noch vieles ungeklärt. Die Anwendung des Zeitrafferfilms erleichtert das Verständnis für die Mikrodynamik derartiger, meist irrtümlich für sehr einfach gehaltener Vorgänge wesentlich, weil das langsame Geschehen überhaupt erst einmal aufgedeckt und wahrnehmbar gemacht wird.

#### 4. Defäkation

##### Vorbemerkungen

Die Abgabe unbrauchbarer Nahrungsreste kann bei *Actinosphaerium eichhorni* an jeder Stelle des kugeligen Körpers erfolgen, außer in den Zonen der kontraktiven Vakuolen.

Der Vorgang der Defäkation konnte unter Zeitraffung gefilmt werden. Er stellt sich im beschleunigten Laufbild etwa dar, wie ein umgekehrt ablaufender Filmstreifen der Nahrungsaufnahme, bis auf die funktionsbedingten Verschiedenheiten.

Im untersuchten Fall zeigt die große Nahrungsvakuole im Laufbild eine gleichmäßig fortschreitende Ortsverlagerung in zentrifugaler Richtung; die Grenzzone Entoplasma-Ektoplasma wird ohne Aufenthalt „durchstoßen“, genau wie bei der Nahrungsaufnahme in umgekehrter Richtung.

Die Nahrungsvakuole „gleitet“ nun mit weiterhin gleichbleibender Geschwindigkeit unter Beiseiteschiebung einiger ektoplasmatischer Alveolen als Ganzes durch die Rindenschicht. Mehrere Flüssigkeitsvakuolen werden recht erheblich aus ihrem Verbande gedrängt; das Platzen der Nahrungsvakuole erfolgt, wenn etwa zwei Drittel ihrer Masse über die Körperoberfläche des *Actinosphaerium* herausragen. So erscheint die Defäkation im Zeitrafferlaufbild. Jedoch sind auch hier die Teilvorgänge viel verwickelter, als es zuerst den Anschein hat, und manche Fragen müssen auch hier vorerst unbeantwortet bleiben. Dem konkreten Beispiel einer Defäkation an Hand von Teilbildern aus dem Zeitrafferfilm seien einige allgemeine Bemerkungen vorausgeschickt.

##### 1. Die distad eingestellte Bewegung der ausstoßungsreifen Nahrungsvakuole im Entoplasma

Für die einfache subjektive Beobachtung verläuft auch sie viel zu langsam, um den Vorgang überhaupt wahrnehmen zu können. In der Wan-

dung der Nahrungsvakuole sind unter Zeitraffung keine Gestaltänderungen zu beobachten, es ist auch sehr unwahrscheinlich, daß die Nahrungsvakuole an ihrer Ortsverlagerung aktiv beteiligt ist.

Strömungen im Entoplasma vor, an den Seiten oder hinter der Nahrungsvakuole müßten im Zeitrafferlaufbild bestimmt in Erscheinung treten, da ja der Raffungsgrad dazu ausreicht, die Ortsverlagerung der Nahrungsvakuole überhaupt als gleitende Bewegung sichtbar zu machen. Es werden keinerlei Strömungen erkennbar; auch eine stärkere Zeitraffung würde wohl kaum etwa vorhandene Entoplasmaströmungen sichtbar machen können, und zwar aus folgenden Gründen: Ein von einer Strömung passiv fortgetragener Körper hat fast die gleiche Geschwindigkeit wie das ihn umgebende strömende Medium; ist also z. B. die Ortsverlagerung eines im Strome treibenden Bootes wahrnehmbar, so muß auch die Strömung des Wassers selbst erkennbar sein (von einem am Ufer stehenden Beobachter). Wird die Nahrungsvakuole infolge von Plasmaströmungen im Entoplasma passiv verlagert, so müssen die Granula in ihrer Nähe mit annähernd der gleichen Geschwindigkeit mitbewegt werden, da sie ebenfalls dem strömenden Medium eingelagert sind und in den meisten Fällen vorzügliche Indikatoren von Plasmaströmungen darstellen.

Herrscht in einem lebenden Protoplasma bei normalem Zeitmoment scheinbar Ruhe und kann durch Änderung des Zeitmomentes eine gleichförmige Ortsverlagerung von selbst nicht aktiv beweglichen Plasmaeinschlüssen nachgewiesen werden, bei der die nähere Umgebung des Einschlusses die Granulastruktur des Plasmas weiterhin in Ruhe zeigt (d. h. nur die mehr oder weniger „ortsfeste“, tanzende Bewegung erkennen läßt), so kann die passive Bewegung des Einschlusses kaum durch eine Plasmaströmung im hergebrachten Sinne verursacht sein.

Die passive Ortsverlagerung einer entleerungsreifen Nahrungsvakuole erfolgt bei unserem normalen Zeitmoment unmerklich langsam; beim Versuch der bewegungsphysiologischen Deutung einer derartigen langsamen Verschiebung einer mit „Membran“ versehenen „Vakuole“ darf die beschleunigte Darstellung und die damit verbundene Sichtbarmachung des Bewegungsvorganges niemals dazu verleiten, der Beschleunigung entsprechende Kraftwirkungen oder Bewegungsimpulse zur Erklärung anzunehmen! (Ebensowenig wie man sich z. B. das Gewicht eines Seeigel-Eies auf Grund der angewandten Vergrößerung durch das Mikroskop vorstellen darf.)

## 2. Die Bewegung der ausstoßungsreifen Nahrungsvakuole im Ektoplasma

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß die gesamte Nahrungsvakuole, ohne daß ihre Gestalt Änderungen aufweist, durch das grobvakuolisierte Ektoplasma durchtritt unter Beiseiteschiebung der unter Druck stehenden Flüssigkeitsvakuolen. Die Nahrungsvakuole hat somit wahrscheinlich einen stärkeren oder zum mindesten den gleichstarken „Binnendruck“ wie die Flüssigkeitsalveolen im Ektoplasma. Wäre dies nicht der Fall, so



könnte die zentrifugal verlagerte Nahrungsvakuole während des ganzen Vorganges nicht ständig ihre wohlgerundete Form behalten, ohne jede Spur einer Eindellung am Vorderende zu Beginn des „Eindringens“ in die Rindenschicht. Ihre Bewegung erscheint im Zeitrafferlaufbild so, als ob überhaupt nicht das geringste Hindernis vorhanden wäre!

Die „Begrenzungsschicht“ der Nahrungsvakuole darf in diesem Falle wohl mit Recht als Membran aufgefaßt werden. Ihr „Platzen“ kann ja beim Austritt der Nahrungsvakuole aus dem *Actinosphaerium* direkt im Zeitrafferlaufbild beobachtet werden. Die Teilbildanalyse hat diesen beachtlichen Vorgang noch genauer aufzuklären. Penard (1889) beobachtete bei *Actinophrys sol*, daß bei der Defäkation die Nahrungsreste ausgeschleudert werden. Vor der Ausstoßung kann die Flüssigkeit in den Nahrungsvakuolen stark vermehrt werden.

Alle Schwierigkeiten, auf die beim Durchtritt der Beute durch das Ektoplasma in zentripetaler Richtung aufmerksam gemacht wurde, bestehen auch beim Deutungsversuch des in zentrifugalem Sinne ablaufenden umgekehrten Vorganges der Defäkation.

Die Defäkation wurde unter Zeitraffung an einem relativ großen „Pseudoeindividuum“ aufgenommen; Durchmesser:  $320\ \mu$ ; Dicke des Ektoplasmas:  $40\ \mu$ . Der Inhalt der Nahrungsvakuole war im Leben dunkelbraun; die Bestandteile konnten nicht näher identifiziert werden. Die später entleerte große Nahrungsvakuole hat einen Durchmesser von  $70\ \mu$ . Im beschleunigten Laufbild der Einstellung 46 (Abb. 22 a—l) fällt die vollkommen gleichbleibende Geschwindigkeit der Bewegung — besser Ortsverlagerung — der Nahrungsvakuole auf, die sich auch beim Übergang vom Entoplasma in das so völlig anders strukturierte grobvakuolisierte Ektoplasma nicht verändert. In den 9<sup>m</sup> zwischen Abb. 22 a und b werden  $30\ \mu$  zurückgelegt; hierdurch gelangt die Nahrungsvakuole an die Grenze Ento-Ektoplasma. Nach weiteren 6<sup>m</sup> ist sie in das Ektoplasma eingetreten: c. Die Wandung der Nahrungsvakuole ist jetzt deutlich sichtbar und bleibt es bis Abb. 22 g. Die Durchtrittsstelle Entoplasma/Ektoplasma wird durch die Nahrungsvakuole verdeckt. Im Entoplasma sind in c keine deutlichen Spuren des Beiseitedrängens erkennbar. Distad von der Nahrungsvakuole ist ein Teil des verdrängten Ektoplasmas bereits stark vorgewölbt, und zwar in einer wesentlich breiteren Zone, als der Vorwölbung der Vakuolenwand entspricht. Hiedurch wird bewiesen, daß die großen Flüssigkeitsalveolen des Ektoplasma im Bereiche des Durchtritts in toto beiseite geschoben werden unter mehr oder weniger starker Formveränderung; es wird also das Ektoplasma hier nicht in eine weniger stark gelatinisierte Phase übergeführt unter scharf lokalisierter Aufhebung der „Ruhestruktur“. Ein starres Axopodium ist infolge der Verschiebung einiger Flüssigkeitsvakuolen aus der normalen, radiären Richtung abgelenkt und nach rechts geneigt (die Axopodien sind ja im Ektoplasma zwischen radiär eingestellten Flüssigkeitsvakuolen „gelagert“; sie reichen offenbar nur sehr wenig in das Entoplasma hinein. Werden Flüssigkeitsalveolen, zwischen denen der basale Teil eines Axopods gelagert ist, aus ihrer Lage passiv



verschoben, so muß sich das starre Axopod zwangsläufig mitbewegen). In den 6<sup>m</sup> seit *b* hat die Nahrungsvakuole etwa ihren eigenen Durchmesser zurückgelegt. In Abb. 22 *d* (1<sup>m</sup> 18<sup>s</sup> seit *c*) ist die Ektoplasmauwölbung erheblich stärker geworden; das Entoplasma ist nahezu völlig von der Nahrungsvakuole verlassen. „Hinter“ ihr ist im Entoplasma eine streifige Anordnung der Granula in ungefähr radiärer Richtung eben erkennbar.

Im Ektoplasma beobachtet man beiderseits der Nahrungsvakuole einige zur Seite gedrängte Flüssigkeitsvakuolen. Im Bereiche der distalen Vorwölbung sind jetzt mehrere Axopodien aus dem oben angegebenen Grunde aus ihrer normalen Radiärstellung verschoben worden. In Abb. 22 *e* (1<sup>m</sup> 18<sup>s</sup> seit *d*) ragt die Nahrungsvakuole bereits 40  $\mu$  über die Oberfläche hervor. Man erkennt jetzt sehr deutlich, daß die vorgewölbte Cytoplasmaschicht nicht eine hyaline, zusammenhängende Lamelle darstellt, sondern daß sie aus mehreren, aus der Rindenschicht verdrängten ektoplasmatischen Flüssigkeitsvakuolen besteht. Wäre die grobvakuolisierte „Rindenschicht“ an der Durchtrittsstelle in Hyaloplasma umgewandelt worden — etwa auf den „Reiz“ der gegendrückenden Nahrungsvakuole —, so müßte sich dieses in den Solzustand (streng lokalisiert und auf die Reizstelle allein beschränkt) übergeführte Rindenplasma genau der halbkugeligen Gestalt der Nahrungsvakuole an der Vorwölbungsstelle anpassen. Rechts oben erkennt man deutlich, daß dies nicht der Fall ist: eine große, nahezu halbkugelige Flüssigkeitsalveole ragt weit hervor; in anderer Ebene „vor“ ihr sieht man die Vorwölbung einer kleineren, aus dem ektoplasmatischen Verband herausgedrängten Flüssigkeitsvakuole. Der hintere Rand der Nahrungsvakuole hat jetzt das Entoplasma verlassen. Die scharfe Grenze zwischen Ekto- und Entoplasma ist im Durchtrittsbereich ( $\approx 70 \mu$ ) aufgehoben, also genau in der Ausdehnung des Durchmessers der Nahrungsvakuole. Entsprechend dem Volumen der durch die Nahrungsvakuole nach außen gedrängten Flüssigkeitsalveole ist Entoplasma in den Ektoplasmaabereich nachgeströmt.

1<sup>m</sup> 36<sup>s</sup> später (Abb. 22 *f*) beginnt die Entleerung; links ist die Wandung der Nahrungsvakuole durchbrochen, Teilchen der Nahrungsreste gelangen in das Wasser. Rechts oben erkennt man noch einen kleinen Teil der Kalotte der in Abb. 22 *e* besonders stark nach außen gedrängten Flüssigkeitsvakuole. Von einem „Platzen“ der Vakuolenwandung kann in diesem Falle wohl nicht gesprochen werden; dies würde einen besonders starken Binnendruck der Nahrungsvakuole voraussetzen und der Inhalt müßte in das Wasser geschleudert werden. (Zur Verdrängung der ektoplasmatischen Flüssigkeitsvakuolen muß jedoch der Binnendruck ausreichen.) Das Zeitrafferlaufbild zeigt, daß sich das *Actinosphaerium* in langsamer Bewegung nach der rechten unteren Bildecke befindet, und zwar ohne Rotation! Dies erhellt bereits daraus, daß in der Zeit von 3<sup>m</sup> 24<sup>s</sup> (Teilbild *f*—*k*) die Entleerungsstelle mit ihren Nahrungsresten immer an der gleichen Stelle bleibt. In gleicher Weise zeigen die kleinen Nahrungsvakuolen im Entoplasma keine wesentlichen Verlagerungen. Das *Actinosphaerium* bewegt sich aktiv von der Entleerungsstelle fort.

Die Abb. 22 *g*, *h*, *i*, *j* zeigen die weitere Auflockerung des Inhaltes der

Nahrungsvakuole. 50° nach *f* geht aus Teilbild *g* hervor, daß die Vakuolenwand rechts oben, ebenso in dem noch im Ektoplasma steckenden Teil noch

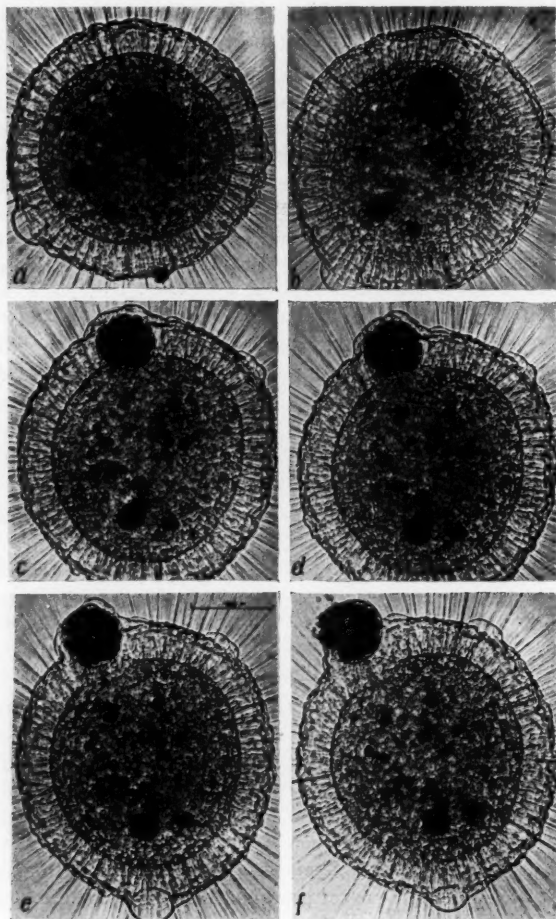


Abb. 22. *a-f*: Sechs Phasen des Ablaufes eines Defäkationsvorganges. Nähere Erklärung im Text. Aus einer Mikrozeitraffer-Filmaufnahme. Teilstrich = 100  $\mu$ .

unversehrt erhalten ist. In *f*, *g* und *h* ist das der Nahrungsvakuole in den „Verdrängungsraum“ im Ektoplasma durch die „Bresche“ in der Grenzzone Ekto-Entoplasma „nachgeströmte“ Entoplasma strukturell sehr deutlich

abgehoben. Die Störung erstreckt sich noch etwa  $80\ \mu$  in das Entoplasma und bleibt etwa bis  $k$  ( $3^m$  seit  $e$ ) erhalten.

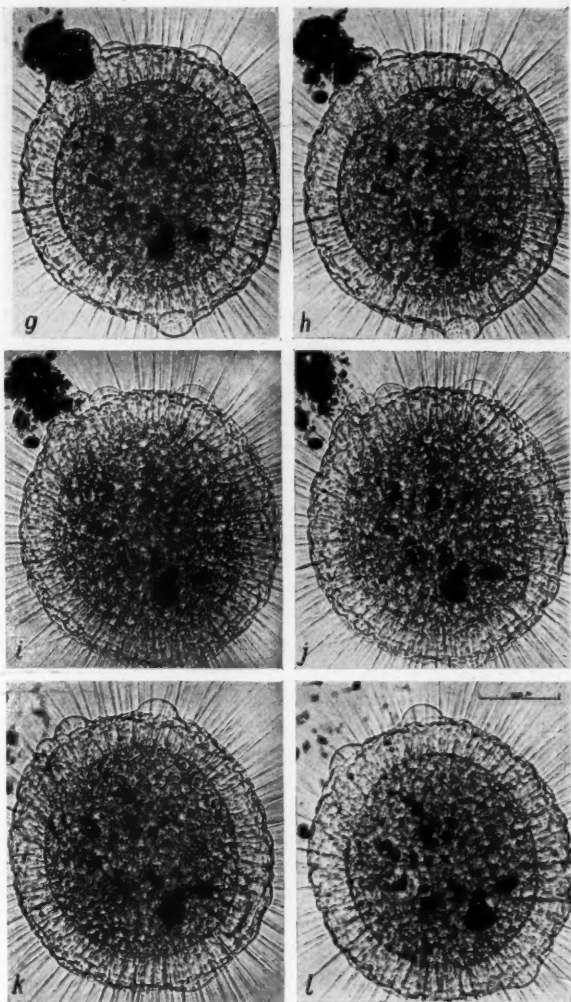


Abb. 22. *g-l*: Sechs Phasen des Ablaufes eines Defäkationsvorganges. Nähere Erklärung im Text. Aus einer Mikrozeitraffer-Filmaufnahme. Teilstrich =  $100\ \mu$ .

Es wurde bereits die große Konstanz der Flüssigkeitsvakuolen des Ektoplasma mehrfach betont, die unter Zeitraffer keine Veränderung der

Lage der Vakuolenwände zueinander sichtbar werden lassen. Auch im Entoplasma waren, bei Änderung des Zeitmomentes, keine Plasmaströmungen nachweisbar. Jedoch wird eine Granulabewegung im Entoplasma bei günstigen Objekten unter Zeitraffung deutlich erkennbar, obwohl vielleicht auch im Leben hier eine feinvakuolisierte Phase vorliegen kann. Den Granula stünden dann allerdings nur die sehr kleinen „Areale“ dieser Entoplasma-Alveolen als Bewegungsraum zur Verfügung. Die Wände dieser kleinen „Waben“ werden im Leben häufig überlagert und verdeckt. Bilder fixierter und gefärbter Actinosphaerien zeigen ein „wabiges“ Entoplasma, das jedoch mit der nötigen Vorsicht zu betrachten ist. (In der bekannten Darstellung des *Actinosphaerium eichhorni* von Doflein nach dem lebenden [!] Objekt zeigt das Entoplasma deutliche „Wabenstruktur“, sogar mit „Alveolarsäumen“ um die größeren Nahrungsvakuolen [Doflein-Reichenow, Lehrbuch der Protozoenkunde; 5. Auflage, 1929; Fig. 5, S. 13].) Die so deutlichen großen Flüssigkeitsvakuolen im Ektoplasma sind in dieser Abbildung nur sehr schwach angedeutet. (Das Entoplasma ist — im durchfallenden Licht — plastisch [!] dargestellt.) Nach Brandt (1878) ist das Entoplasma, die „Marksubstanz“, von *Actinosphaerium eichhorni* durch kleine „Vakuolen“ gekennzeichnet. Im Gegensatz zu unseren Beobachtungen am Zeitrafferlaufbild beobachtete Brandt eine fortwährende Verschiebung dieser Vakuolen.

Die im Leben schwer sichtbare, jedoch aus verschiedenen Gründen anzunehmende, vakuolisierte oder „wabige“ Phase des Entoplasmas macht es vielleicht auch verständlich, daß unter Zeitraffung im Entoplasma keine Strömungsvorgänge erkennbar werden. Aus dem gleichen Grunde ist es auch nicht erstaunlich, daß noch 9<sup>m</sup> nach Teilbild e die Stelle im Entoplasma deutlich ist, an der die Nahrungsvakuole die Grenze Ento-Ektoplasma passierte. Um in einem Raum von ungefähr 0,0008 mm<sup>3</sup> die ursprüngliche Cytoplasmastruktur der Ruhephase wiederherzustellen, ist also ein Zeitraum von mehr als 9<sup>m</sup> erforderlich. Im Gegensatz hiezu denke man z. B. an den so überaus schnellen Übergang von Ektoplasma in Entoplasma beim Ento-Ektoplasma-Prozeß mancher Amöben. Aus der Zeitdauer für die Wiederherstellung der „Ruhestuktur“ des Entoplasmas kann demnach — mit gewissen Einschränkungen — auf die Zustandsphase des Cytoplasma geschlossen werden. Beim Vergleich verschiedener Objekte ist selbstverständlich das Maß der jeweiligen Beschleunigung im Laufbild in Rechnung zu stellen!

Noch 26<sup>m</sup> nach Teilbild a ist die Durchtrittsstelle der Nahrungsvakuole durch die Grenze Ento-Ektoplasma deutlich zu erkennen. In Teilbild j der Abb. 22 (33<sup>s</sup> seit i, 3<sup>m</sup> seit e) befindet sich kein Rest des ehemaligen Inhaltes der Nahrungsvakuole mehr zwischen den aus ihrer Lage temporär verdrängten ektoplasmatischen Flüssigkeitsvakuolen in der Durchtrittszone. Der Vorgang der Defäkation ist somit, was die Hinausbeförderung unbrauchbarer Reste betrifft, als beendet anzusehen. Es interessiert jetzt noch die Wiederherstellung der Ektoplasmastruktur in der Durchtrittsstelle.

Die Teilbilder j, k und l zeigen sehr deutlich, daß tatsächlich, wie oben

behauptet wurde, ganze Flüssigkeitsvakuolen des Ektoplasma beim Durchtritt der Nahrungsvakuole aus ihrer Lage, z. T. unter starker Formänderung im Sinne einer Abkuglung, herausgedrängt wurden, im Gegensatz zum normalen Zustand der polyedrischen Anordnung der Wandungen der sich dicht berührenden Flüssigkeitsvakuolen, die in den Teilbildern, besonders auch bei der Oberflächeneinstellung Abb. 1b, überall erkennbar ist. Entstehungsgemäß sind diese Wände als doppelt anzusehen; die Nahrungsvakuole trennt beim Durchtritt durch das Ektoplasma den grobvakuolisierten Aufbau der Rindenschicht in den — optisch mit den gewöhnlichen Hilfsmitteln nicht mehr nachweisbaren — Berührungsflächen der jeweils zu einer „optischen Einheit“ vereinigten Doppelwände (s. das Schema Abb. 21). Nur in diesen theoretisch zu fordernden Grenzen können die Flüssigkeitsvakuolen gegeneinander verschoben und u. U. sogar ganz aus dem Zusammenhang gebracht werden, wobei eine mehr oder weniger genaue Kugelgestalt angenommen werden kann, da der Seitendruck der benachbarten Flüssigkeitsalveolen ja nunmehr fehlt bzw. verringert ist. Diese Abkuglung erkennt man recht deutlich in den Teilbildern j und k. In i (20<sup>m</sup> seit a) sieht man bereits unmittelbar rechts neben der „Störungsstelle“ eine kontraktile Vakuole im Anfangsstadium der Füllung (16<sup>m</sup> später wird sie erstmalig entleert). Das Teilbild k zeigt nun sehr klar (links von dieser kontraktilen Vakuole) einige infolge des Durchtritts der Nahrungsvakuole aus ihrem „Verbande“ gerissene ektoplasmatische Flüssigkeitsvakuolen. In j sind sie um annähernd die Hälfte der Dicke der Rindenschicht distad verlagert. 2<sup>m</sup> später (k) ist die Wiederaufnahme dieser Alveolen in den „Rindenverband“ bis auf eine kleine Vorwölbung unmittelbar neben der neu entstandenen kontraktilen Vakuole beendet. In Teilbild l (2<sup>m</sup> 39<sup>s</sup> später) sieht man kaum noch eine Spur der durch den Durchtritt der Nahrungsvakuole verursachten Störungen der normalen Ektoplasmastruktur. Vom Beginn der ersten Lageveränderung der Nahrungsvakuole im Entoplasma (a) bis zum Teilbild l sind insgesamt 25,2<sup>m</sup> vergangen.

Nahrungsaufnahme und Defäkation zeigen bei *Actinosphaerium* in ihrem mikrodynamischen Ablauf gemeinsame Züge, nur ist die Richtung des Transportes entgegengesetzt. Zeitrasterlaufbild und Teilbildanalyse führen zwar zu klaren mikrodynamischen Vorstellungen über die einzelnen Phasen der Bewegungsabläufe an der Zelloberfläche und im Zellinnern, die Bewegungsursachen für den Ein- und Austritt von Beuteobjekten und Nahrungsresten bleiben jedoch, auch bei Änderung des Zeitmomentes, zunächst noch unerklärt („erklären“ = auf einfachere Tatsachen zurückzuführen versuchen). Nahrungsaufnahme und Defäkation sind in Wirklichkeit noch viel verwickeltere Vorgänge im Zell-Leben, als sie hier dargestellt werden konnten. Vor allem bleibt die Frage offen, auf welche Weise ein selbst nicht mit Eigenbewegung ausgestatteter Körper — z. B. eine Nahrungsvakuole —, dessen Wandung aus Protoplasma besteht, seine zentripetalen oder zentrifugalen Bewegungsimpulse erhält, ohne daß im Cytoplasma weder bei subjektiver Beobachtung noch unter Zeitrasterung Strömungen nachzuweisen sind.



#### IV. Zusammenfassung

1. Die lebende Zelle von *Actinosphaerium* wird unter Zeitraffung „abgetastet“. Das Zeitrafferlaufbild enthüllt die subjektiv nicht wahrnehmbaren Bewegungen des ganzen Tieres sowie die intrazellulären mikrodynamischen Strukturänderungen.

2. Selbst bei einer 220fachen Geschwindigkeit werden im grobvakuolierten Ektoplasma und im dichtgranulierten Entoplasma keine Strömungen oder Verlagerungen von „Strukturelementen“ sichtbar. Die „Alveolarstruktur“ des Ektoplasmas ist erstaunlich formkonstant. Es wird eine 30- bis 240fache Geschwindigkeit angewandt, bei Massenaufnahmen eine 408fache.

3. Unter Zeitraffung wird eine sehr verwickelte Ortsbewegung der Tiere erkennbar. An den Axopodien werden langsame Bewegungen sichtbar, die den Eindruck von „Ruderbewegungen“ machen. Der Ausschlag eines einzelnen Axopods beträgt etwa  $8^{\circ}$ – $12^{\circ}$ . Von welcher Region die Bewegungsimpulse ausgehen, ist noch nicht geklärt. Die verschiedenen Möglichkeiten werden erörtert. Untersuchung dieser Bewegung durch häufige Beobachtung des Zeitrafferlaufbildes und durch Teilbildanalyse. Die Bahnen der Tiere werden graphisch dargestellt.

4. Von 36 Actinosphaerien eines Massenversuches waren nach  $13^h 10^m$  nur noch 15 Einzeltiere und Aggregate vorhanden. Verringerung der Anzahl infolge von Plasmogamien ohne Anwesenheit von Beuteobjekten.

5. Bewegungen, die zur Plasmogamie führen, zeigen eigenartige „Spiralform“. „Tänzelnde“ Schwebbewegung derartiger Tiere.

6. In Massenaufnahmen wird durch „Richtungsrosetten“ festgestellt, daß im wesentlichen zu gleichen Zeiten sämtliche Richtungen eingeschlagen werden.

7. Die Geschwindigkeit der Ortsverlagerung wird durch „Weg-Zeit-Kurven“ graphisch dargestellt. Zu Versuchsbeginn meist nur eine geringe Geschwindigkeit fast aller Tiere; nach  $1^h$  Aufspaltung des Kurvenbündels infolge des verschiedenen Verhaltens der Tiere. Der Bahnverlauf ist um so glatter, je länger der Weg und je größer also die Geschwindigkeit ist.

8. Der lebende Inhalt von Cysten kann (unter Zeitraffung beobachtet) langsam rotieren. Das Zustandekommen dieser Bewegung ist noch ungeklärt.

9. Bei der Trennung von großen, infolge von Plasmogamie entstandenen Aggregaten erfolgt diese nicht in den alten Grenzen der verschmolzenen „Pseudoeindividuen“, sondern in neuen Zonen. Die Trennungsbewegung kann u. U. nur von einem „Partner“ durchgeführt werden. Das Auseinanderweichen erfolgt in der Richtung des geringsten Widerstandes. Es können bei der Trennung sehr lange und dünne Cytoplasmafäden entstehen.

10. Während einer Plasmogamie können große Nahrungsvakuolen der beiden Partner miteinander verschmelzen; wie diese Bewegung zustande kommt, ist noch nicht geklärt. Die Nahrungsvakuolen „nähern sich“ mit gleichförmiger Geschwindigkeit (unter Zeitraffung beobachtet).

11. Die Mikrodynamik der Aufnahme eines Beuteobjektes und die dabei auftretenden Strukturänderungen werden genauer untersucht. Aus den



Axopodien an der Berührungsstelle mit dem Beuteobjekt hervorgegangene „Plasmalamellen“ zeigen unter Zeitraffung rhythmisch wogende Bewegungen. Das Beuteobjekt „passiert“ das grobvakuolierte Ektoplasma mit gleichbleibender Geschwindigkeit.

12. Kleinere Nahrungsobjekte folgen den Alveolenwänden des Ektoplasma, die dabei wahrscheinlich temporär aufgespalten werden und sich „hinter“ dem Objekt wieder zusammenschließen. Die Flüssigkeitsvakuolen des Ektoplasma werden beim Durchtritt der Beute mehr oder weniger stark zur Seite geschoben; es tritt keine Zerreißung oder Verschmelzung von Alveolen ein.

13. Die einfach erscheinenden Alveolenwände des Ektoplasma müssen ihrer Entstehung nach „Duplikaturen“ sein. Es scheint eine gewisse „Spaltbarkeit“ bewahrt zu sein trotz optischer Einheitlichkeit.

14. Wie die zentripetal gerichtete Verlagerung des Beuteobjektes zustande kommt, ist noch ungeklärt. Jedenfalls werden im Ektoplasma unter Zeitraffung keinerlei Bewegungen erkennbar.

15. Die unter Zeitraffung gefilmte Defäkation erscheint im Laufbild dynamisch ähnlich wie der umgekehrt ablaufende Vorgang der Nahrungsaufnahme. Die Nahrungsvakuole „gleitet“, als Ganzes, mit gleichbleibender Geschwindigkeit durch Ento- und Ektoplasma. In „Mark“- und „Rindenschicht“ werden selbst bei starker Zeitraffung keine Strömungen sichtbar. Auch bei der Defäkation werden ektoplasmatische Flüssigkeitsvakuolen in toto beiseite gedrängt und nach dem Durchtritt der Nahrungsvakuole allmählich wieder eingeordnet.

#### Literatur

- Brandt, K.: Über die Axenfäden der Heliozoen und die Bewegungen von *Actinosphaerium*. Sitz.-Ber. Ges. naturf. Freunde. Berlin 1878.
- Gruber, A.: Die Frage nach dem Bestehen verschiedener Plasmaschichten im Weichkörper der Rhizopoden. Biol. Zentr. Bl. 6, 1886.
- Kuhl, W.: Kinematische Zellforschung. Biologia generalis 16, 1942.
- Die technischen Grundlagen der kinematischen Zellforschung. — Vorschläge für eine exakte wissenschaftliche Mikrokinematographie. Springer-Verlag (Heidelberg), 1949.
- Vorweisung von 2 Mikrozeitraffer-Filmen über *Actinosphaerium eichhorni* Ehrbg. Verhdl. d. Deutsch. Zoolog. Ges. in Mainz, 1949.
- Thompson, D'Arcy W.: On growth and form. Cambridge University Press, 1942.
- Penard, É.: Études sur quelques Hélozoaires d'eau douce. Arch. d. Biologie, IX, 1889.

## Experiments with Distant Effects of Protoplasm

By

**R. Keller, Ph.D. and S. S. Wanderman, M.D.**

Madison Foundation for Biochemical Research, New York City

With 2 Text-Figures

(Received May 18, 1951)

Effects of living protoplasm outside the cell were investigated by H. S. Burr and A. Maura [1], at Yale University. In their study of nerves,

they used an electrometer and discovered the existence of electric potentials surrounding the nerves. These potentials diminished with an increase in the distance from the nerves. R. Keller and E. Kalmus [4], using fluorescent and daylight visible dyes, demonstrated attraction areas, or halos, around living tissue. They found, also, that this tissue, after weeks of contact with photographic film, produced an autography by its emission of radiant energy. The halos, or attraction areas, around the living cells, are seen easily when the living tissue is stained with fluorescent dyes and illuminated with ultraviolet rays.

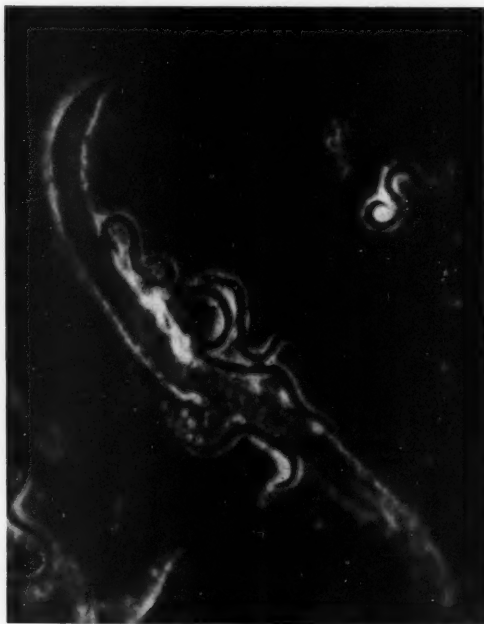


Fig. 1. *Anguillula* worms. Stained with thioflavin S, 0.5%, showing bright yellow attraction areas in "mantles" around bodies of worms.

### Experiments

The methods used in staining test specimens were the same as those described previously by Keller and co-workers [5, 6, 7]. Fig. 1 shows a picture of the microworm *Anguillula*, which was stained with a super-saturated solution of the basic dye, methylene blue, and 5% glycine. Similar effects may be obtained with dyes such as toluidine blue, vital blue, and thioflavin S. By the addition of amino acids or urea to the dye solution, the water acquires a higher dielectric constant, and as a result, better staining is obtained. Many biochemists are of the opinion that amino acids or urea form complex compounds with the dyes.

Fig. 1 illustrates the attraction of the dye to the body of the micro-worm. E. Deydar and I. Schorstein [2] found that narcotized animals lose about 50% of their normal potentials. The worms in the methylene blue solution, therefore, were treated with a 1% solution of chloroform, whereupon the greater part of the blue attraction mantle disappeared. After the death of the specimen, the entire halo disappeared. The methylene blue then was observed entering the head of the animal. In life, the head of the animal was impermeable to basic dyes. These studies were repeated with toluidine blue, neutral red, safranin, methylene green, Grubler's vital blue, and other basic dyes, with the same results.

A number of fluorescent dyes were tried on a variety of plant and animal tissues. Fluorescent dyes offer a considerable advantage over daylight dyes in that some are visible in dilutions as high as 1 : 1,000,000. Most of the fluorescent dyes, positive as well as negative, revealed the halo. Repulsions were observed only rarely, but could be produced with very dilute (1 : 80,000) solu-



Fig. 2. Allantoic blood vessels of the chicken embryo. Stained with brilliant dianil green. The large vessel in the center shows a heavy attraction sphere. The smaller vessels are not as clearly reproduced in the photograph.

tions of rhodamin B. With the diphasic dye, thioflavin S, the halo was seen as yellow-green on the violet background of the neutral solution.

With daylight indicators such as neutral red or safranin, a tinge in the area of the stomach mucosa (lumen side) of *Daphnia*, was observed near the living surface. N. Henning [3] observed an acid red tinge at a distance of 6 to 8 microns from the surface of the epithelium of the frog's stomach. This was confirmed by Gicklhorn in unpublished experimental work at the Prague Laboratory. A good example of dye attraction is observed in the allantois of the chicken embryo (Fig. 2).

A number of microscopic pictures were recently obtained of the organs and tissues of mice injected with a 5% solution of acriflavin. Frozen sections of these specimens were re-enforced with an additional staining with 0.5% acriflavin and washed with physiological saline. According to our interpretation, these pictures showed a zone of distant effects around vessels in the liver, muscles, heart, gall bladder, duodenum, and the kidney.

### Discussion

The experiments with electropolar dyes justify the hypothesis that electrostatic and electromagnetic fields exist around the cell and extend a few thousandths of a millimeter into the area surrounding the cell. The attraction of the living cell for colored or uncolored substances may be caused, in part, by electrical phenomena, and not solely by the dynamics of the membrane.

### Summary

Experimental evidence, with old and new methods demonstrating attraction and repulsion of dyes, supports the hypothesis that living protoplasm has an area of electrical force extending beyond the cell membrane.

Photographs by D. A. Stevens and M. Toback, New York Medical College.

### References

- [1] Burr, H. S., and Maura A.: Yale J. Biol. and Med. 21, 455, 1949.
- [2] Deydar, E., and Schorstein, I.: Kolloid Chem. Beihefte 28, 210, 1929.
- [3] Henning, N.: Archiv. f. Exp. Path. 165, 193, 1952.
- [4] Keller, R., and Kalmus, E.: Distant Effects of Protoplasm. Biologia Generalis 19, 312, 1951.
- [5] — and Pisha, B. V.: Anat. Rec. 98, 39, 1947.
- [6] — Anat. Rec. 103, 133, 1949.
- [7] Sulzberger, M. B., Herrmann, Keller, R., and Pisha, B. V.: J. Investig. Dermatology 14, 91, 1949.

# Eine verbesserte Durchströmungskammer<sup>1</sup>

Von

Eduard Stadelmann, Innsbruck

Mit 3 Textabbildungen

(Eingelangt am 14. Juni 1951)

Zu einer längerdauernden mikroskopischen Beobachtung lebender Zellen in definierten Milieus dienen Kammern, in welchen das Objekt eingelegt ist und die Milieuflüssigkeit durch Zufluß und Abfluß ständig erneuert wird. Dabei soll die Milieuflüssigkeit gewechselt werden können, um eine größere Variation der Versuche zu ermöglichen. Die Wechsel sollen beliebig oft und rasch nacheinander erfolgen können und derart vor sich gehen, daß die Zeitspanne, während welcher das Objekt von Anteilen der alten und neuen Milieuflüssigkeit gemeinsam umströmt wird, möglichst klein bleibt.

Die ersten Durchströmungskammern wurden von Pagan (1887) und Klercker (1889) beschrieben und besaßen im Beobachtungsraum oder in der Zuleitung kapillare Systeme (Löschpapier- bzw. Leinwandstreifen), so daß bei einem Wechsel der Milieuflüssigkeit Reste der ersten Flüssigkeit in unkontrollierbarer Weise zurückbleiben können. Ruhland und Hoffmann (1925) konstruierten eine Kammer, die diese Nachteile vermeidet, aber durch die Art der Einbringung des Objektes in ihrer Anwendung beschränkt ist und einen sehr raschen Wechsel der Milieuflüssigkeiten für ganz kurzdauernde Durchleitungen nicht zuläßt.

Um die erwähnten Schwierigkeiten zu umgehen, wird bei der verbesserten Durchströmungskammer die Flüssigkeit mit Hilfe eines angebauten Glashahnes gewechselt; ebenso ist das Deckglas zum Einbringen des Objektes leicht abnehmbar. Alle Teile bestehen aus Glas und werden an ihren Berührungsstellen durch Kitt miteinander verbunden. Der Kitt muß dort, wo er mit der Milieuflüssigkeit (bei Versuchen an lebenden Zellen Wasser oder wäßrige Lösungen) in Berührung kommt, dieser gegenüber resistent sein und darf keine darin löslichen Anteile enthalten.

Auf einer Glasplatte von  $10 \times 15$  cm wird an einer ihrer Schmalseiten der Objektraum, in welchem das Objekt liegt, aufgebaut. Er ist etwa 12 mm breit, 16 mm lang und deckglashoch. Vorne und rückwärts ist er von zwei parallelen Deckglasstreifen *a* und *b*<sup>2</sup> begrenzt, die mit Kanadabalsam

<sup>1</sup> Aus der Inaugural-Dissertation zur Erlangung des philosophischen Doktorgrades an der Universität Innsbruck, eingereicht am 22. Mai 1951

<sup>2</sup> Die Buchstaben beziehen sich auf die Abb. 3.

auf die Grundplatte geklebt sind. Auf diesen liegt das abnehmbare, rechteckige Deckglas auf, welches kleiner ist und die Enden und Ränder der Streifen unbedeckt läßt. Über diese freien Enden ist an beiden Seiten ein Deckglasstreifen *d* und *e* mit Kanadabalsam quer darübergelast, so daß sich eine deckglashohe, oben abgeschlossene Zufluß- und Abflußöffnung zum Objektraum bildet. Der Abstand der Streifen *d* und *e* voneinander ist derart bemessen, daß zwischen ihnen das Deckglas auf die Streifen *a* und *b* aufliegt und noch einen kleinen (ca.  $\frac{1}{2}$  mm breiten) Zwischenraum frei läßt. Auf die vom Deckglas nicht bedeckten Ränder der Streifen *a* und *b* werden schmale Deckglasstreifen *f* und *g* geklebt. Das Deckglas ist so an allen vier Seiten von einer gleich hohen Umrandung umgeben.

Zum Abschluß des Deckglases wird auf der Umrandung und auf der Oberseite des Deckglasrandes eine Schicht Vaseline aufgetragen und darauf eine dünne Kautschukfolie *h* leicht angedrückt. Diese Folie überdeckt die Streifen *f* und *g* ganz und läßt von den Streifen *d* und *e* an ihrer Außenseite einen schmalen Rand *k* und *m* frei, an welchem der Zufluß- und Abflußraum anschließt. In der Mitte der Kautschukfolie ist ein Fenster ausgeschnitten, durch welches das Objekt im Mikroskop beobachtet wird. Die Öffnung des Fensters ist so groß, daß die Folie an allen Seiten noch mit einem etwa 4 mm breiten Rand dem Deckglas aufliegt. Das Deckglas kann nach Abnehmen der Kautschukfolie leicht entfernt werden, und der Objektraum ist dadurch zum Einbringen des Objektes sehr einfach und schnell zu öffnen. Zum Kleben der Deckglasstreifen muß eine möglichst dünne Schicht Kanadabalsam ausreichen, damit keine unnötigen Überhöhungen entstehen. Soll verhindert werden, daß die Milieuflüssigkeit an den Fugen der Klebstellen mit dem Kanadabalsam in Berührung kommt, werden die betreffenden Kanten des Objektraumes und der Zuflußöffnung mit einer dünnen Schicht Paraffin überzogen.

Die Milieuflüssigkeit wird durch ein Zuflußrohr von einem Glashahn, der später beschrieben wird, zugeführt. Um das Gesamtvolumen der Zuleitung zwischen Glashahn und Objektraum klein zu halten, wird hierzu ein Kapillarrohr gewählt, so daß sich beim Wechsel der Flüssigkeiten diese darin möglichst wenig vermischen und ähnliche Verhältnisse entstehen, wie sie bei einer unmittelbaren Übertragung des Objekts in das neue Milieu vorliegen.

Als Übergang vom Kapillarrohr, das etwa 15 mm vor der Zuflußöffnung endigt, zum Objektraum ist ein Zuflußraum aufgebaut. Er wird von zwei Wänden, *i* und *j*, begrenzt, die aus schmalen Objektträgerstreifen mit Kanadabalsam auf die Grundplatte gekittet sind und von beiden Seiten des Kapillarrohres an die Streifen *a* und *b* führen, womit der Abfluß des Kapillarrohres auf die Breite des Beobachtungsraumes erweitert wird. Die Höhe der Wände nimmt (stufenweise mit der Dicke des verwendeten Objektträgers) von der des Kapillarrohres auf jene des Objektraumes ab. Der so entstehende keilförmige Zuflußraum wird oben von einem trapezförmigen Deckglasstück *p* abgeschlossen, das die Oberseite des Rohrendes, die



beiden Wände *i* und *j* und den Rand des Streifens *d* berührt. Bevor es an diesen Stellen mit Präparatenkitt allseits dicht mit seiner Auflage verbunden wird, ist die Innenwandung mit Paraffin derart auszukleiden, daß alle toten Räume an den Kanten und Ecken ausgefüllt werden, damit die ganze in dem Zuflußraum befindliche Flüssigkeitsmenge gleichmäßig von der Strömung erfaßt bleibt. Freilich läßt sich diese Auskleidung an der Kittstelle des Deckglases selbst nicht mehr oder nur sehr beschränkt durchführen, doch ergeben sich bei den Versuchen hiedurch keine Störungen. Schließlich wird die Eintrittsstelle des Zuflußrohres und die Außenseite der

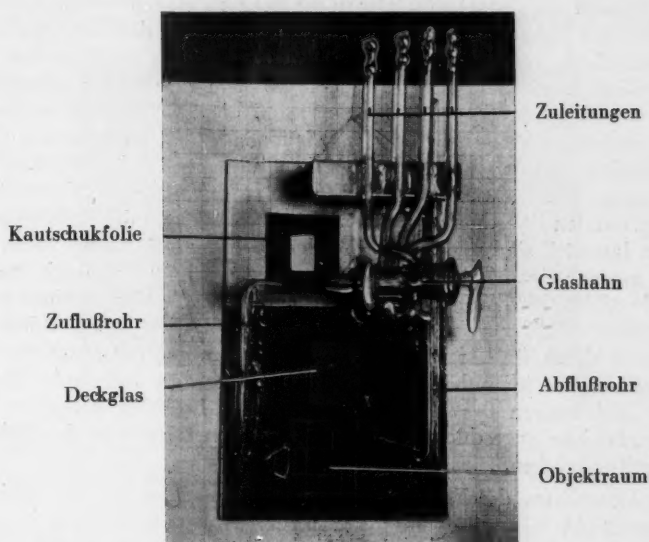


Abb. 1. Draufsicht auf die Durchströmungskammer. Zur leichteren Erkennbarkeit ihrer Masse wurde sie bei der Aufnahme auf Millimeterpapier gelegt. Der Objektraum ist geöffnet; das Deckglas und die Kautschukfolie sind abgenommen und liegen ober dem Objektraum auf der Grundplatte.

Wände *i* und *j* mit einem starken Überzug von Präparatekitt verstärkt, der bis an die Grundplatte reicht.

An die Abflußöffnung schließt der Abflußraum an, der völlig gleich dem Zuflußraum aufgebaut ist. Als Abflußrohr dient ein gewöhnliches Glasröhrchen, das mit dem einen Ende etwas über den Rand der Grundplatte hinausreicht. Das Zufluß- und das Abflußrohr wird, wo es der Grundplatte aufliegt, mit dieser bis knapp vor ihrer Einmündung in den Zufluß- bzw. Abflußraum mit Wasserglas verklebt, auf das nach Trocknung ein lückenloser Schutzüberzug aus Kanadabalsam aufgebracht wird.

Der Glashahn, mit welchem vier verschiedene Milieuflüssigkeiten gewechselt werden können, ist an dem rechten Ende der anderen Schmal-

seite der Grundplatte mit entsprechend hohen Glasfüßchen derart aufgekittet, daß seine Zuleitungsröhrchen über diese Schmalseite hinausreichen und der Griff an der rechten Längsseite zur leichten Bedienung etwas hervorsteht. Zwischen dem Objektraum und dem Glashahn bleibt genügend Platz für den Objektrevolver eines Mikroskops, und die Objektive können, ohne die Durchströmungskammer am Objektisch zu verrücken, gewechselt werden.

Die Zuleitungen des Glashahnes führen an vier kleine Öffnungen in der Hahnbohrung, die an einem Kreisumfang um je eine Vierteldrehung voneinander versetzt angeordnet sind. Der in die Bohrung eingeschlossene drehbare Innenteil des Hahnes ist hohl und besitzt in der Höhe der vier Öffnungen ein feines Loch, von welchem ein dünnes Glasröhrchen axial an der dem Drehgriff abgewandten Seite des Innenteiles etwa 10 mm lang herausführt und in einer etwas erweiterten Öffnung endigt. Liegt die Öffnung des Innenteiles genau gegenüber einer der vier Öffnungen in der Bohrung, so gelangt die betreffende Flüssigkeit aus der Zuleitung in das axiale Röhrchen. Bei Drehung des Hahnes wird auf diese Weise eine Zuleitung nach der anderen mit dem axialen Röhrchen verbunden. Die Öffnungen an der Hahnbohrung und am Innenteil sind so fein, daß bei der Drehung des Hahnes zuerst der Zufluß aus der einen Zuleitung völlig gesperrt wird, bevor er sich für die folgende öffnet. Der Anfang des etwa 12 cm langen Zuleitungsrohres ist in der Verlängerung der Hahnachse an das axiale Röhrchen herangeführt und mit diesem durch ein kurzes Stück Gummischlauch derart verbunden, daß bei Drehung das Schlauchstück mitdreht und über dem Zuflußrohr gleitet. An die Zuleitungen des Glashahnes sind vier L-förmig gebogene Zuleitungsrohre angeschlossen, die in die Vorratsgefäße der Milieuflüssigkeiten tauchen.

Das Durchleiten der Flüssigkeit durch den Glashahn und den Objektraum geschieht mit Hilfe eines geringen und regelbaren Unterdrucks auf der Abflußseite, wodurch die Strömungsgeschwindigkeit bei allen Flüssigkeiten und unabhängig von einem beliebigen Wechsel gleich groß bleibt. Das Abflußrohr der Durchströmungskammer ist mit einem längeren Gummischlauch an eine Saugflasche angeschlossen und wird dort mit einem durch deren Stopfen führenden Glasrohr (Ableitungsrohr) verbunden. Den Unterdruck erzeugt eine Wasserstrahlpumpe, deren Saugwirkung, da sie für diesen Zweck zu groß ist, durch zusätzliches Einsaugen von Luft in die Saugflasche herabgesetzt wird. Hierzu ist in eine zweite Bohrung des Stopfens ein Glasrohr eingeführt und dessen unteres Ende zu einer Kapillare ausgezogen. Am oberen Ende trägt es ein Stück Gummischlauch mit dem Schraubhahn I, der die Menge der eingesaugten Luft in den gewünschten Grenzen einstellen läßt. Ein Schraubhahn II befindet sich am Gummischlauch zwischen Durchströmungskammer und Saugflasche; mit diesem kann der Durchfluß völlig gesperrt werden und es läßt sich die Strömungsgeschwindigkeit kontinuierlich regeln. Sie ist auf einfache Weise durch Abzählen der Tropfen, die pro Sekunde aus dem Ableitungsrohr an der Saugflasche austreten, abzuschätzen.

Zur längeren Beobachtung einer bestimmten Stelle im Objekt darf dieses von der strömenden Flüssigkeit und durch deren Wechsel nicht verschoben werden. Dies würde besonders bei höheren Strömungsgeschwindigkeiten sehr leicht eintreten, so daß eine mechanische Fixierung des Objektes im Objektraum nötig ist. Ihre Art hängt von der Gestalt des Objektes ab und ist bei Schnitten sehr einfach, wenn beiderseits der interessierenden Stelle noch andere Gewebeteile mit abgetrennt werden können. Das Objekt wird dann etwas länger geschnitten, als das Deckglas breit ist, und mit seinen Enden über die Zufluß- und Abflußöffnung auf die Streifen *d* und *e* gelegt. Nach dem Auflegen des Deckglases ist der Schnitt in der Vaseline durch die leicht angepreßte Kautschukfolie auch für hohe Strömungs-

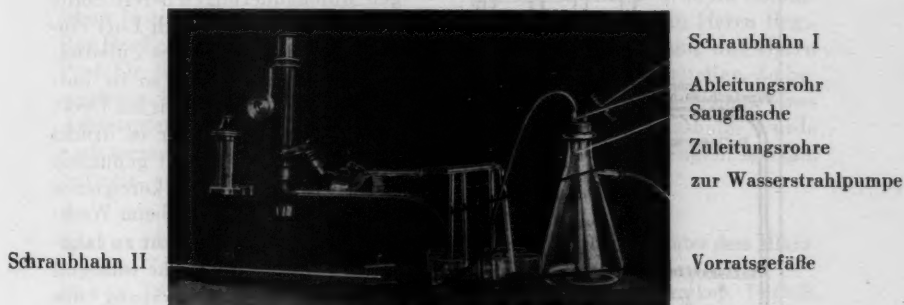


Abb. 2. Seitenansicht der Gesamtanordnung.

geschwindigkeiten ausreichend fixiert. Ist das Objekt so klein, daß keine solche Halterung möglich ist, werden mehrere parallele Glasfäden mit Paraffin an den inneren Kanten der Streifen *a* und *b* quer zur Strömungsrichtung derart eingekittet, daß sie sich nach oben zu wölben. Das Objekt wird auf die Glasfäden gelegt und von ihnen beim Aufsetzen des Deckglases leicht gegen dieses angedrückt, so daß es bei niedrigen Strömungsgeschwindigkeiten genügend fest hält. Diese Art der Halterung ist auch für Fadenalgen verwendbar, doch verschieben sich die Fäden meist, wenn zwischen zwei nicht isotonischen Flüssigkeiten gewechselt wird.

Die so beschriebene Durchströmungskammer ist auf dem Objektisch des Mikroskops mit den beiden Objektklammern festgehalten und so gelegt, daß der Objektraum unter die Frontlinse des Objektivs zu liegen kommt. Die Saugflasche wird mit dem Gummischlauch angeschlossen und die Zuleitungsrohre in die Vorratsgefäße der Milieufüssigkeiten getaucht. Vor dem Einbringen des Objektes ist es meist nötig, die in den Zuleitungen befindliche Luft zu entfernen. Man schließt dazu den leeren Beobachtungsraum mit Deckglas und Kautschukfolie dicht ab und saugt die Milieufüssigkeiten eine nach der anderen soweit durch, daß sie bis zur Austrittsöffnung des Glashahnes steigen. Hernach wechselt man auf jene Milieufüssigkeit, in welcher das Objekt eingebracht werden soll, und saugt sie durch die ganze Durchströmungskammer, so daß sie den Objektraum und die gesamte Ab-

leitung erfüllt. Dann wird mit dem Schraubhahn II am Gummischlauch der Durchfluß abgesperrt und der Glashahn in eine Zwischenstellung gebracht, um beim Öffnen des Objektraumes ein Rückströmen der Flüssigkeit in das tiefer gelegene Vorratsgefäß zu vermeiden. Ist das Objekt eingelegt, wird der Objektraum mit dem Deckglas wieder geschlossen, die Kautschukfolie

leicht angedrückt und der Glashahn geöffnet. Schließlich stellt man die gewünschte Strömungsgeschwindigkeit mit dem Schraubhahn II ein, und die Apparatur ist für die Beobachtung des Objektes bei beliebigen Milieuänderungen bereit. Sollte in den Objektraum noch Luft eingesaugt werden, doch die Zuleitungen dicht abschließen, so ist entweder die Vaselineschicht am Deckglasrand zu dünn, oder es drückt die Kautschukfolie nicht genügend an, was beides leicht zu korrigieren ist. Der Glashahn darf beim Wechseln der Zuleitungen nicht zu langsam gedreht werden, da während der Dauer der Absperrung der Unterdruck im Objektraum das Deckglas gefährdet. Die Einstromungszeit, also die Zeit, die zwischen dem Wechsel der Milieuflüssigkeit am Glashahn und dem Einstromen der zweiten Flüssigkeit in den Objektraum vergeht, hängt von der Strömungsgeschwindigkeit ab und läßt sich aus Versuchen mit konzentrierten Farblösungen bestimmen. Bei geringer Strömungsgeschwindigkeit, bei der nur etwa alle 2 sec ein Tropfen vom Ableitungsrohr in die Saugflasche fällt, beträgt sie bei dem hier beschriebenen Gerät im Mittel 6 sec; die ersten Anteile der zweiten Flüssigkeit strömen aber bereits etwa 3 sec nach dem Wechsel

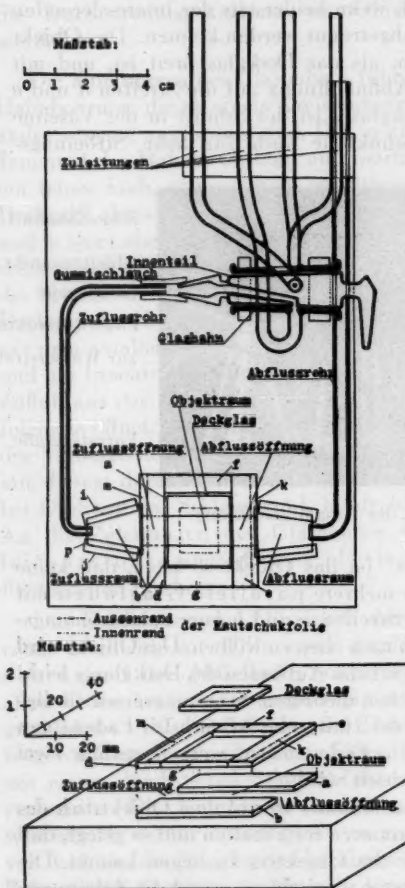


Abb. 3. Skizze der Durchströmungskammer im Aufriss und dreidimensionale Darstellung des Aufbaues vom Objektraum.

am Glashahn in den Objektraum ein, während die letzten Anteile der ersten Flüssigkeit nach 9 sec den Objektraum verlassen. Bei hohen Strömungsgeschwindigkeiten (4 Tropfen pro Sekunde) läßt sich die Einstromungszeit bis auf 2 sec verringern. Es empfiehlt sich, die Strömungs-

geschwindigkeit um so höher zu wählen, je rascher die Wechsel der Milieuflüssigkeiten einander folgen sollen.

Nach Beendigung des Versuches wird zur Reinigung durch alle Zuleitungen einige Minuten lang Wasser und darauffolgend Luft gesaugt. Dann wird der Objektraum geöffnet, das Objekt herausgenommen und die letzten Flüssigkeitsreste durchgesaugt. Man entfernt schließlich die Zuleitungsrohre, trocknet, soweit zugänglich, mit Filtrierpapierstreifen nach und bewahrt die Durchströmungskammer für spätere Versuche an einem staubfreien Ort auf.

Die ersten Versuche zur Konstruktion einer Durchströmungskammer wurden 1944 im ehemaligen phytopathologischen Laboratorium der biologischen Reichsanstalt, Zweigstelle Wien, und in der Biologischen Station Lunz am See unternommen. Die hier beschriebene Ausführung wurde im Botanischen Institut der Universität Innsbruck vollendet. Ich danke Herrn Reg.-Rat Dr. Fr. Pichler für die Möglichkeit zu deren Durchführung und Herrn Prof. Dr. R. Kolkwitz für wertvolle Ratschläge und Literaturstellen. Zu besonderem Dank bin ich Herrn Prof. Dr. A. Pisek für die Überlassung eines Arbeitsplatzes und das stete Interesse verpflichtet. Der Glashahn wurde nach meinen Angaben von Herrn Hans Egli, Glasbläser, Wettingen, Aargau, Schweiz, angefertigt.

#### Literatur

- Klercker, I. F., 1899: Über das Kultivieren lebender Organismen unter dem Mikroskop. Zeitschr. wiss. Mikr. 6.  
Pagan, 1887: J. roy. micr. Soc., zitiert in Encyclopädie der mikroskop. Technik, 1903, Bd. 2.  
Ruhland, W., und Hoffmann, C., 1925: Die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis*. Ein Beitrag zur Ultrafiltertheorie des Plasmas. Planta 1, 1.

#### Résumé

Chambre d'observation microscopique à irrigation continue. — Cet appareil permet l'observation microscopique de coupes, etc, en milieu liquide constamment renouvelé. L'alimentation se fait par un réservoir, et la constance du milieu est garantie. L'alimentation peut se faire au choix au moyen de 4 liquides différents: On peut passer très rapidement de l'un à l'autre, et varier à volonté l'ordre de succession des liquides d'alimentation. Pendant ces opérations, l'objet reste constamment sous le microscope, et peut être observé à volonté; on peut ainsi constater immédiatement les altérations produites par les changements de milieu.

La circulation du liquide dans la chambre d'observation est assurée au moyen d'une dépression réglable à la sortie. A l'entrée, un robinet spécial, situé immédiatement en amont de la chambre, permet d'alimenter celle-ci avec le liquide désiré. La chambre elle-même est constituée par des morceaux de lamelles appliquées sur une base également en verre; elle comporte un orifice latéral pour l'admission et l'évacuation du liquide. Sa face supérieure est constituée par une lamelle amovible, permettant l'introduction aisée de l'objet. L'étanchéité est assurée par une couche de vaseline sur les bords de la lamelle et une feuille mince de caoutchouc.



## Kern-Kristalloide in Stomata-Zellen?

Von

Griseldis Kenda, Irmtraud Thaler und Friedl Weber

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz)

Mit 6 Textabbildungen

(Eingelangt am 4. Juli 1951)

Es ist schon lange bekannt, daß bei manchen Pflanzen Eiweißkristalloide im Cytoplasma der Epidermiszellen vorkommen, es ist aber meist nicht aufgefallen, daß den Schließzellen diese Kristalloide (Spindeln) fehlen, obwohl die Stomatazellen entwicklungsgeschichtlich der Epidermis zuzurechnen sind. Zuerst hat wohl Amadei (1898) darauf hingewiesen, daß zwar die Epidermiszellen von *Impatiens Balsaminea* lange Eiweißspindeln führen, die Schließzellen der Spaltöffnungen aber nicht. Über die Eiweißspindeln der Epidermis von *Oncidium mikrochilum* sagt Mikosch (1890: 34): „Am konstantesten ist ihr Auftreten in den Nebenzellen der Spaltöffnungen.“ Es scheint daraus hervorzugehen, daß die Cytoplasma-Kristalloide in den Schließzellen fehlen. Der Mangel von Eiweißspindeln in den Stomatazellen ist aus einer Abbildung ersichtlich, die Küster (1935: 409) von der Oberhaut von *Epiphyllum* gibt, und Weber (1940) hat mit Nachdruck hervorgehoben, daß in der Cytoplasma-Eiweißspindeln führenden Epidermis von *Valerianaella* die Stomatazellen diese Gebilde nicht besitzen.

Wakker (1892) hat in den Epidermiszellen der Knolle der Amaryllidee *Tecophila cyanocrocus* einen spindelförmigen Inhaltskörper gefunden, den er Rhabdoid nannte. Mit Molisch (1891) kann man diesen Körper zu den Eiweißspindeln rechnen. Aus der Abb. 1, die Wakker seiner Arbeit beigibt, ist zu sehen, daß die Epidermiszellen je ein Rhabdoid enthalten, die Schließzellen aber nicht.

Im Zusammenhang mit der Frage nach der Idioblastennatur der Schließzellen (Weber und Kenda, 1951) ist es von Interesse, ob, ebenso wie die Eiweißkristalloide des Cytoplasmas, auch die des Zellkernes den Schließzellen fehlen. Kernkristalloide sind für Pflanzenzellen wiederholt beschrieben worden. Die Literatur darüber findet sich zusammengestellt u. a. bei Zimmermann (1893), Molisch (1913), Meyer (1920), Tischler (1934). Nur in ganz wenigen einschlägigen Arbeiten wurde darauf geachtet, ob bei den Pflanzen, deren Epidermiszellen Kernkristalloide enthalten, solche auch in den Schließzellen vorkommen. Klein (1882), der Entdecker der Eiweißkristalloide im Zellkern von *Pinguicula*, berichtet folgendes über ihr Vorkommen: „Die Kristalloide findet man in den Epidermiszellen der ober-



irdischen Teile, mit Ausschuß der Spaltöffnungszellen. Klein ist wohl der erste, dem diese Eigenart der Schließzellen aufgefallen ist. Andere Autoren, die *Pinguicula* auch untersuchten (Leitgeb 1888, Fenner 1904), erwähnen darüber nichts. Zimmermann (1893: 71) fand in den Blättern von *Hippuris vulgaris* in den Kernen der Epidermiszellen je ein Kristalloid, „nur die Schließzellen des Spaltöffnungsapparates waren stets frei davon.“ Solla (1920), der eine Reihe von Monokotylen auf das Vorkommen von Kern-kristalloiden untersuchte, gibt für *Chlorophytum comosum* an, daß die

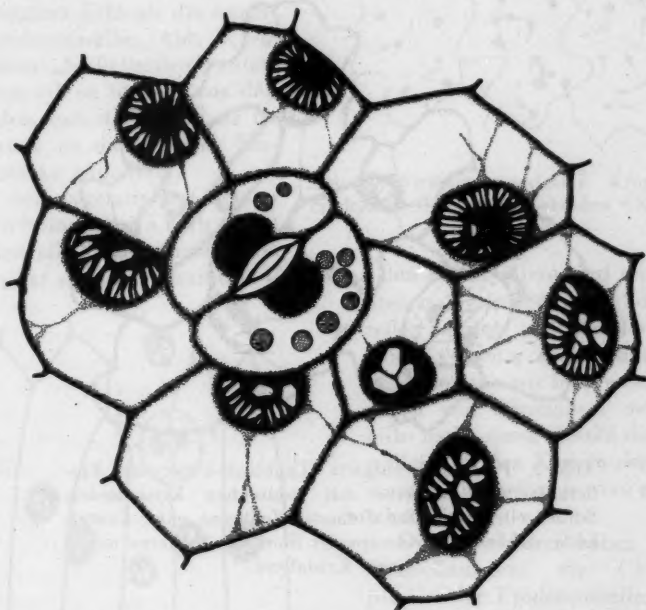


Abb. 1. *Lathraea squamaria*. Fruchtknoten. Epidermiszellen: Zellkerne (schwarz) mit zahlreichen Kristalloiden (weiß). Schließzellen: Zellkerne ohne Kristalloide.

großen kugeligen Zellkerne, „selbst jene der Schließzellen“, ein Kristalloid führen. Das Hauptuntersuchungsobjekt von Solla waren die Zellkerne von *Albucca*. Im Blatt von *Albucca fastigiata* zeigen die Kerne aller gewöhnlichen Epidermiszellen Kristalloide — „In den Kernen der Spaltöffnungs-Schließzellen war ein Kristalloid nur hin und wieder zu bemerken.“ Die Kerne der Epidermiszellen von *Albucca Nelsoni* enthalten durchwegs Kristalloide, „doch fehlen sie hier, mit vereinzelter Ausnahmen (Blütenstiele), den Spaltöffnungsschließzellen“.

Diese spärlichen Literaturangaben sollten durch eigene Beobachtungen etwas ergänzt werden. Wir untersuchten zuerst die Zellkerne der Schließzellen von *Lathraea squamaria*. An dieser Pflanze hat schon 1859 Radl-

kofer Kernkristalloide festgestellt. Die Frage, ob bei *Lathraea* Stomata überhaupt vorkommen, war lange umstritten. Schließlich wurde sie dahin entschieden, daß Stomata — und gar nicht selten — sowohl am Stengel als auch an den Blättern, besonders aber in der Epidermis des Fruchtknotens zu finden sind (Lit. bei Porsch 1905). Wir untersuchten nun die Schließzellen der genannten Organe und sahen, daß die Kerne der Stomatazellen keine Kristalloide enthalten, im Gegensatz zu den Kernen der übrigen Epidermiszellen, in denen die Kristalloide regelmäßig vorkommen (Abb. 1).

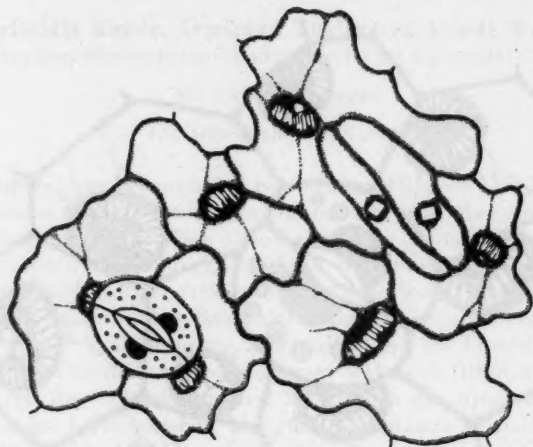


Abb. 2. *Pinguicula vulgaris*. Laubblatt-Unterseite. Epidermiszellen. Zellkerne mit zahlreichen Kristalloiden. Schließzellen normaler Stomata: Zellkerne ohne Kristalloide. Schließzellen abnormaler Stomata: Zellkerne mit je einem Kristalloid.

Weitere Beobachtungen wurden an *Pinguicula vulgaris* gemacht, und zwar an Exemplaren, die aus Übelbach, nördlich von Graz, stammen und zwei Jahre, auf grobem Torfmull kultiviert, ohne Insekten-Zusatznahrung sehr gut gediehen. In den Epidermiszellen der Laubblätter sind die Zellkerne mit zahlreichen, besonders prächtig entwickelten Kristalloiden erfüllt. In den normal ausgebildeten Stomatazellen dagegen sind die Zellkerne ohne Kristalloide (Abb. 2). Damit ist zunächst die Angabe von Klein bestätigt. Diese wird auch nicht durch die Beobachtung folgender Ausnahme entkräftet. In der Epidermis der Laubblattunterseite finden sich vereinzelt Paare von Zellen, die ihrem Habitus nach und in ihrer Einordnung in die Epidermis ohne weiteres als Schließzellen zu erkennen sind. Sie bilden allerdings keinen normal entwickelten Spaltöffnungsapparat, denn es fehlt zwischen diesen beiden Zellen die Spalte. Sie sind aber auch nicht unfertige Entwicklungsstadien, denn diese „Schließzellen“ sind sogar größer als die normaler Stomata, und überhaupt finden sich in ausgebildeten Blättern keine Stomata-

Jugendstadien mehr. Es handelt sich bei diesen Schließzellen-Paaren offenbar um Spaltöffnungsapparate, die den Endschnitt der Differenzierung infolge einer Hemmung nicht mehr durchgemacht haben. Es scheint uns nun von Interesse, daß in den „Schließzellen“ dieser mißgebildeten Spaltöffnungsapparate die Zellkerne wohl ausgebildete Kristalloide enthalten, wenn auch in geringerer Zahl als die sonstigen Epidermiszellen (Abb. 2). Die abnormen „Schließzellen“ unterscheiden sich im übrigen von den normalen auch darin, daß sie im Gegensatz zu diesen keine Plastidenstärke enthalten.

In den vegetativen Organen von *Utricularia* hat Klein (1882) Kernkristalloide aufgefunden, die Blüten hat er nicht untersucht. Gerade an den Kelchblättern sind reichlich

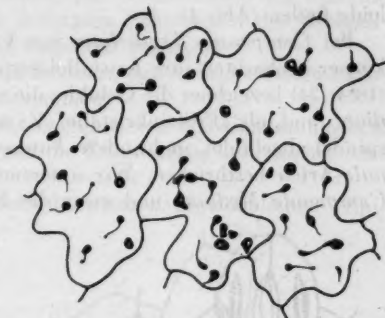


Abb. 3. *Utricularia vulgaris*. Kronblatt. Epidermiszellen mit amoeboiden Chromoplasten.

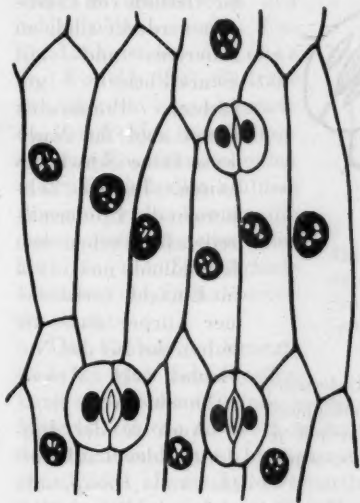


Abb. 4. *Galtonia candicans*. Perigonblatt. Epidermiszellen: Zellen mit Kristalloiden. Schließzellen: Zellkerne ohne Kristalloide.

anscheinend nicht alterierten Zellen; bei längerem Liegen in Wasser kugeln sich die Chromoplasten ab.

Stomata vorhanden; ihre Schließzellen sterben auffallenderweise häufig vorzeitig ab. Kernkristalloide konnten wir in den Schließzellen von *Utricularia vulgaris* nicht nachweisen, obwohl die Kristalloide in den Kernen der Epidermiszellen selbst in vivo gut zu sehen sind.

Die Kronblätter haben keine Spaltöffnungen; die Chromoplasten der Epidermiszellen, die die gelbe Färbung der Blüte bedingen, zeigen mitunter eigenartig amoeboide Gestalten sowie fadenförmige Fortsätze (Abb. 3). Sie erinnern damit an die Plastiden-Formänderungen, die Gicklhorn (1932) in Epidermiszellen von Orchideenblättern durch Plasmolyse auslösen konnte. In der Epidermis der Kronblätter von *Utricularia* treten diese Formänderungen der Chromoplasten aber schon ohne Plasmolyse auf in

In den Epidermiszellen der Perigonblätter von *Galtonia candicans* hat Leitgeb (1886) Eiweißkristalloide gesehen, weitere Angaben darüber liegen von Klein (1917) vor. In den Schließzellen konnten wir keine Kernkristalloide finden (Abb. 4).

Bei *Campanula Trachelium* hat Vogl (1866) in Zellkernen Einschlusskörper beobachtet, ihre Kristalloidnatur aber noch nicht erkannt. Schenk (1884: 24) bezeichnet die Gebilde, die er in Haarzellen von *Campanula Medium* fand, als „Proteinkristalle“. Zimmermann (1893) hat diese Eiweißspindel abgebildet, und andere Autoren haben sie auch für andere *Campanula*-Arten beschrieben. Wir untersuchten zunächst eine Gartenform von *Campanula Medium*, und zwar die Epidermis der Kelchblätter. In jeder

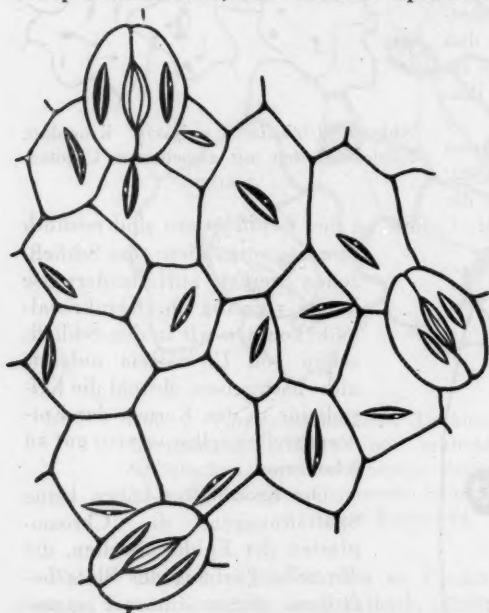


Abb. 5. *Campanula Medium*. Kelchblatt-Unterseite. Epidermiszellen: Zellkerne mit je einer Eiweißspindel und einem Nucleolus. Schließzellen: Zellkerne mit je einer Eiweißspindel. Nucleolus meist nicht zu sehen.

Epidermiszelle befindet sich im Kern je ein spießförmiger „Eiweißkristall“. Diese Spindeln fehlen auch den Zellkernen der Schließzellen nicht, sie sind in diesen etwas schwerer zu sehen, da sie vielfach von Plastiden verdeckt sind, an fixierten und mit Säure-Fuchsin gefärbten Präparaten bietet aber ihr Nachweis keine Schwierigkeiten. In den Zellkernen der Epidermiszellen fällt neben dem Kristalloid meist ein in Einzahl vorhandener Körper auf: wir halten ihn für den Nucleolus (vgl. Meyer 1920: 89) (Abb. 5).

Auch in der Epidermis des Laubblattes von *Campanula*

*thyrsoides* haben die Schließzellen ebenso Eiweißspindeln wie die gewöhnlichen Zellen, die Kerne der letzteren weisen 1 oder 2 Nucleolen auf, in den Kernen der Schließzellen sind keine Nucleolen zu sehen. Ebenso ist es bei *Campanula glomerata* (Abb. 6).

Es wäre wünschenswert, noch weitere Pflanzen, die in den Epidermiszellen Eiweißkristalloide enthalten, vergleichend daraufhin zu untersuchen, ob diese auch in den Schließzellen vorkommen. Nicht immer dürfte ein solcher Vergleich möglich sein, denn manche Organe, die in den Epidermis-

zellen Kernkristalloide haben, wie etwa der Fruchtknoten von *Alectorolophus* (Sperlich 1907), besitzen keine Stomata, und bei manchen Laubblättern verdecken die zahlreichen Plastiden der Schließzellen den Einblick auf den Zellkern. Trotz der dadurch bedingten Spärlichkeit der Beobachtungen läßt sich aber doch wohl schon folgendes aussagen:

1. Es ist bisher anscheinend kein Fall bekannt, daß in Schließzellen Cytoplasma-Eiweißkristalle (Spindeln) vorkommen.

2. Es scheint die Regel zu sein, daß, abgesehen von den Campanulaceen, den Schließzellen auch in den Zellkernen die Eiweißkristalloide immer oder doch meist fehlen.

Dieser cytomorphologische Unterschied zwischen „gewöhnlichen“ Epidermiszellen und Stomatazellen ist offenbar bedingt durch eine cytophysiologische Sonderheit der durch inäquale (differentielle) Teilung entstandenen Schließzellen. Diese zeichnen sich ja durch verschiedene Eigentümlichkeiten aus (Weber 1927), so fehlen u. a. den Schließzellen auch Ca-Oxalat-Kristalle (Weber und Kenda 1951). Es fragt sich, ob nicht einmal gerade aus dem Fehlen bzw. Seltensein von Eiweißkristalloiden in den Schließzellen Schlüsse gezogen werden können, die einen etwas tieferen Einblick in die Stoffwechsel-Eigenheit der Stomatazellen gewähren.

Das Fehlen der Kristalloide in den Schließzellen kann verschiedene Gründe haben. Es könnte das zur Proteinbildung nötige Material fehlen; an die Kohlehydrat-Komponente ist dabei wohl nicht zu denken, denn die mit Chloroplasten ausgestatteten Schließzellen können diese eher bilden als die Epidermiszellen; es könnte aber an Nitraten mangeln. Stock (1892) hat gezeigt, daß Steigerung der Nitratzufuhr die Bildung von Eiweißkristalloiden begünstigt. Man müßte annehmen, daß die Schließzellen für Nitrate oder andere N-haltige Komponenten schwerdurchlässig sind; das ist allerdings nicht recht wahrscheinlich, denn die Schließzellen zeichnen sich im allgemeinen durch erhöhte Permeabilität für verschiedene Stoffe aus (vgl. Stöger 1950). Es könnte den Schließzellen aber auch die Fähigkeit zur Eiweißsynthese fehlen. Durch die Untersuchungen von Caspersson (1941) und seiner Mitarbeiter dürfen wir heute annehmen, daß die Eiweißsynthese

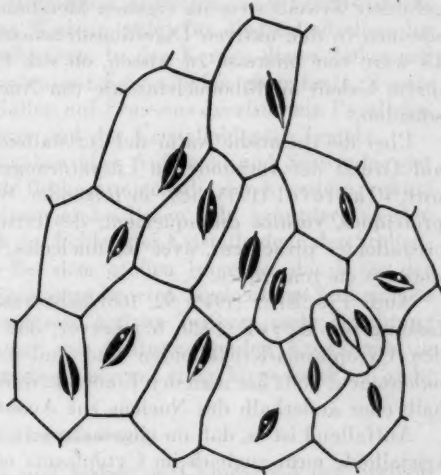


Abb. 6. *Campanula glomerata*. Kelchblatt-Unterseite. Epidermiszellen: Zellkerne mit je einer Eiweißspindel. Nucleolus meist zu sehen. Schließzellen: Zellkerne mit je einer Eiweißspindel. Nucleolus meist nicht zu sehen.



lediglich unter Mitwirkung von Nukleinsäure erfolgen kann, und zwar entweder von Thymonucleinsäure aus dem Chromatin oder von Ribonucleinsäure aus dem Nucleolus. Die Thymonucleinsäure soll die Synthese der Kernproteine ermöglichen, die Ribonucleinsäure die der Cytoplasma-Eiweiße (siehe darüber Brachet 1947).

Linsbauer (1930: 169) ist der Ansicht, die Epidermis sei ein Bereich niederer Stoffwechselaktivität. Dies gilt allerdings wohl nur für die „gewöhnlichen“ Oberhautzellen, nicht aber für die Schließzellen, die als besonders stoffwechselaktiv angesehen werden müssen. Vielleicht hängt es mit diesem Unterschied in der Intensität des Stoffwechsels zusammen, daß die Epidermiszellen Eiweißkristalle bilden, die Stomatazellen nicht, weil sie das gebildete Eiweiß stets im eigenen Metabolismus umsetzen. Bei *Pinguicula* scheinen in den aktiven Digestionsdrüsenzellen die Kristalloide zu fehlen. Es wäre von Interesse zu wissen, ob sich Epidermis- und Schließzellen in ihrem Gehalt an Ribonucleinsäure (im Nucleolus und Cytoplasma) unterscheiden.

Über die chemische Natur der „cristalloides intranucléaires“ äußern sich auf Grund der vorhandenen Literaturangaben Guilliermond, Mangenot, Plantefol (1935: 185) in folgender Weise: „Ce sont des cristalloides protéiques, voisins, chimiquement, des cristalloides extranucléaires... Les cristalloides présentent, avec les nucléoles, des rapports évidents, qui ont toujours été remarqués.“

Auch Tischler (1945: 92, 168) hebt unter Hinweis auf die Zusammenfassung bei Meyer (1920: 67) hervor, daß die Kernkristalloide einerseits den Cytoplasma-Kristalloiden und andererseits den Nucleolen chemisch nahestehen: „Oft hat man den Eindruck, daß es mehr Zufall ist, ob sie innerhalb oder außerhalb des Nucleus zur Ausscheidung kommen.“

Auffallend ist es, daß im allgemeinen in ein und derselben Zelle Eiweißkristalloide nicht zugleich im Cytoplasma und im Nucleoplasma auftreten. Das ist schon einigen Autoren, zuerst wohl Zimmermann (1893), aufgefallen. Heinricher (1892: 465) erwähnt, daß in der Blumenkrone von *Lathraea squamaria* in den Oberhautzellen relativ große Kristalloide außerhalb des Zellkernes vorkommen können. „Die Zellkerne enthalten dann keine Kristalloide, ein Verhalten, welches ganz dem von Zimmermann hervorgehobenen entspricht, daß niemals Zellkernkristalloide und Kristalloide im Zellsaft gleichzeitig in derselben Zelle vorkommen“ Später (1900) hat Heinricher allerdings festgestellt, daß bei *Lathraea* frei im Cytoplasma liegende Eiweißkristalle sehr verbreitet sind; sie wurden wegen ihrer Kleinheit (ca.  $1\mu$ ) bisher übersehen. Diese Kriställchen sind oft in großer Zahl bis zu hundert und darüber im Cytoplasma vorhanden. Stock (1892) konnte in *Rivina*-Blättern durch längeres Liegenlassen auf nitrathaltiger Flüssigkeit die Bildung von Proteinkristallen auch außerhalb der Zellkerne bewirken, wo sie sonst nicht vorkommen. Sperlich (1907: 9) hat in seiner eingehenden Studie über die Zellkernkristalloide von *Alectorolophus* auch ihr Verhalten während der Zellteilung verfolgt. Er hält die Beobachtung von Zimmermann, daß die Kernkristalloide bei der Mitose in das Cytoplasma übertreten, für eine seltene Ausnahme, bei *Alectorolophus* ergibt sich viel-



mehr folgendes: „Bei Teilungsstadien fehlt in den in Teilung begriffenen Kernen, aber auch im Plasma der betreffenden Zellen jede Spur einer Kristallmasse. Die Kristalloide werden offenbar schon vor Beginn des Teilungsprozesses aus dem Kern herausgelöst.“ Nach vollendeter Teilung hat der Kern gleich wieder die Fähigkeit, Kristalloide aufzustapeln. Dies beweist, sagt Heinricher, die Raschheit der Kristallbildung.

Die Analogie zum Verhalten des Nucleolus, der ja auch zu Beginn der Mitose verschwindet und in der Telophase wieder gebildet wird, ist auffallend. Gicklhorn (1932: 279) hat trotz des massenhaften Auftretens der Kristalloide im Zellkern (Haare von *Melampyrum nemorosum*) „nicht ein einziges Mal Kristalle im Cytoplasma oder im Zellsaft gesehen“.

Einen besonderen Fall des rhythmischen Auftretens und Verschwindens von Kristalloiden im Zellkern hat Weber (1926) für die Schließzellen der Blätter von *Dahlia variabilis* beschrieben. In den Kernen dieser Zellen soll der Nucleolus in seinem Vorkommen mit Kristalloiden abwechseln. Zweigelt (1917: 425) gibt an, daß in Gallen auf *Fraxinus excelsior* ein Parallelismus zwischen der Chromatinmenge und der Kristalloidgröße besteht.

Es handelt sich bei obigen Angaben über Auftreten und Schwinden der Kristalloide um einzeln dastehende Beobachtungen, die durch weitere ergänzt werden müßten, bevor sie zu einem einheitlichen Bild gruppiert werden können. Erst dann wird man auch das Fehlen der Kristalloide in den Schließzellen besser verstehen können. Bei dem großen Interesse, das heute der Eiweißsynthese in der Zelle entgegengebracht wird, verdient das Vorkommen von Eiweißkristalloiden im Cytoplasma und im Zellkern mehr Beachtung als bisher, sowie auch deshalb, weil das Auftreten solcher Kristalloide in manchen Fällen offenbar im Zusammenhang mit einer Virus-Infektion steht (vgl. Rosenzopf 1951).

### Zusammenfassung

Eiweißkristalloide (Spindeln) sind bisher im Cytoplasma der Schließzellen nicht gefunden worden. Auch im Zellkern der Schließzellen fehlen die Kristalloide in der Regel. Eine Ausnahme bilden die Schließzellen von *Campanula*-Arten, ihre Kerne weisen stets Eiweißspindeln auf. Das Fehlen der Eiweißkristalloide im Cytoplasma und meist auch im Karyoplasma der Schließzellen ist ein bisher kaum beachtetes Symptom der stoffwechselphysiologischen Eigenheit (Idioblastennatur) der Stomatazellen.

### Literatur

- Amadei, 1898: Über spindelförmige Eiweißkörper in der Familie der Balsamineen. Bot. Ztrbl. 73.  
 Brachet, 1947: Embryologie chimique. Paris.  
 Caspersson, 1941: Studien über den Eiweißumsatz in der Zelle. Naturwissenschaften 29.  
 Fenner, 1904: Beiträge zur Kenntnis der Laubblätter und Drüsen einiger Insektivoren. Flora 93.  
 Gicklhorn, 1932: Notiz über die Eiweißkristalle im Zellkern der Haare von *Melampyrum nemorosum*. Protoplasma 15.

- 1932a: Vorübergehende Formänderungen von Plastiden während der Plasmolyse. *Protoplasma* 15.
- Guilliermond, Mangelot, Plantefol, 1938: *Cytologie végétale*. Paris.
- Heinricher, 1892: Biologische Studien an der Gattung *Lathraea*. Sitzber. k. Akad. Wiss. Wien. 101, Abt. I.
- 1931: Monographie der Gattung *Lathraea*. Jena.
- Kiehn, 1917: Die Nukleolen von *Galtonia candicans*. Diss. Marburg.
- Klein, 1879: *Pinguicula alpina* als Insekten-fressende Pflanze. Beitr. Biol. Pflanze 5.
- 1882: Die Zellkern-Kristalloide von *Pinguicula* und *Utricularia*. J. wiss. Bot. 13.
- Küster, 1935: Die Pflanzenzelle. Jena. 2. Aufl. 1951.
- 1948: Über die Eiweißspindeln von *Impatiens*. Biol. Zbl. 67.
- Leitgeb, 1886: Kristalloide in Zellkernen. Mit. bot. Inst. Graz. 1.
- Linsbauer, 1930: Die Epidermis. Handb. Pflanzenanatomie 1.Abt., 2. Teil, Band 4.
- Meyer, 1920: Analyse der Zelle. Jena.
- Mikosch, 1890: Über ein neues Vorkommen geformten Eiweißes. Ber. deutsch. bot. Ges. 8.
- Molisch, 1891: Bemerkung zu Wackers Arbeit. Ber. deutsch. bot. Ges. 9.
- 1915: Mikrochemie der Pflanze. Jena.
- Porsch, 1905: Der Spaltöffnungsapparat im Lichte der Phylogenie. Jena.
- Radlkofer, 1859: Über Kristalle proteinartiger Körper. Leipzig.
- Rosenzopf, 1951: Sind Eiweißspindeln Virus-Einschlusskörper? Phyton 3.
- Schenk, 1884: Centrifugale Wandverdickungen. Diss. Bonn.
- Solla, 1920: Über Eiweißkristalloide in den Zellkernen von *Albuca*. Österr. bot. Ztg. 69.
- Stöger, 1950: Zur Permeabilität der Schließzellen. *Protoplasma* 39.
- Stock, 1892: Ein Beitrag zur Kenntnis der Proteinkristalle. Beitr. Biol. Pflanzen 6.
- Sperlich, 1907: Die Zellkernkristalloide von *Alectorolophus*. Beih. bot. Ztrbl. 21, Abt. I.
- Tischler, 1934: Allgemeine Pflanzenkaryologie II.
- Wakker, 1892: Ein neuer Inhaltkörper der Pflanzenzelle. Jahrb. wiss. Bot. 23.
- Weber, 1926: Der Zellkern der Schließzellen. *Planta* 1.
- 1927: Die Schließzellen. Arch. experim. Zellforschung 3.
- 1940: Eiweißspindeln von *Valerianella*. *Protoplasma* 34.
- und Kenda, 1951: Notizen über *Nymphaeaceen*-Stomata. *Protoplasma* 40.
- Zimmermann, 1893: Über die Proteinkristalloide. Beitr. Morphol. und Physiolog. d. Pflanzenzelle 1. Tübingen.
- Zweigelt, 1917: Blattlausgallen unter besonderer Berücksichtigung der Anatomie und Ätiologie. Ctrbl. Bakt. 47, II. Abt.

### Kurze Mitteilungen

## Rhabdoide fehlen den Schließzellen von *Drosera*

Von

Lia Brat, Griseldis Kenda und Friedl Weber

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz)

Mit 3 Textabbildungen

(Eingelangt am 8. August 1951)

Gardiner (1885) und Garjeanne (1918) haben in den Epidermiszellen besonders der Kelchblätter von *Drosera*-Arten stabförmige Inhaltkörper beobachtet, die im Cytoplasma liegen. Trotz der Größe dieser Stäbe, Spieße oder Spindeln ist es nicht leicht, sie in vivo zu beobachten, da sie sich in ihrer Lichtbrechung von der des Protoplasmas nur wenig unterscheiden. Meist sind sie in jeder Epidermiszelle in Einzahl enthalten. Obwohl über sie noch wenig bekannt ist, hat sich doch für sie in den letzten Jahrzehnten niemand mehr interessiert. Zimmermann (1892, Schneider (1922), Tunmann-Rosenthaler (1931), Küster (1951) rechnen die Rhabdoide zu den Eiweißkristalloiden. Kenda, Thaler, Weber (1951) haben darauf hingewiesen, daß Eiweißkristalloide (Spindeln) selbst dann in Schließzellen nicht vorkommen pflegen, wenn sie in gewöhnlichen Epidermiszellen anzutreffen sind, und zwar gilt dies sowohl für Kristalloide des Cytoplasmas als auch für solche des Karyoplasmas. Es war daher für uns von Interesse, ob in den Schließzellen von *Drosera* Rhabdoide vorhanden sind.

Untersucht wurde die Epidermis der Kelchblätter folgender *Drosera*-Arten: *D. rotundifolia*, *D. intermedia*, *D. capensis*. Bei allen Arten fanden sich in den Oberhautzellen die Rhabdoide in guter Ausbildung und meist vollkommen regelmäßig. Die Schließzellen der Stomata, die an der Kelchblatt-Unterseite recht zahlreich vorhanden sind, enthielten keine Rhabdoide (Abb. 1). Damit wird wieder ein Fall bekannt, daß den Stomazellen vielfach Inhaltkörper fehlen, die sich in den anderen Epidermiszellen finden.

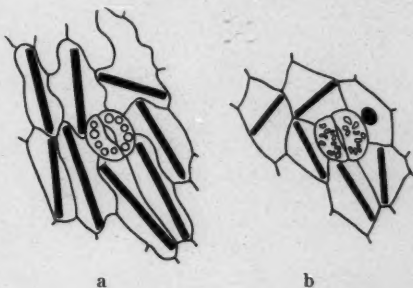


Abb. 1. Epidermis der Kelchblatt-Unterseite. a von *Drosera intermedia*, b von *Drosera capensis*. Die gewöhnlichen Oberhautzellen enthalten je ein Rhabdoid (schwarz), die Schließzellen nicht.

Es ist nicht beabsichtigt, in dieser kurzen Mitteilung auf die Natur und Bedeutung der Rhabdoide näher einzugehen, nur einige Beobachtungen seien mitgeteilt, die wir an ihnen machten. Die Lebendbeobachtung erfolgt am

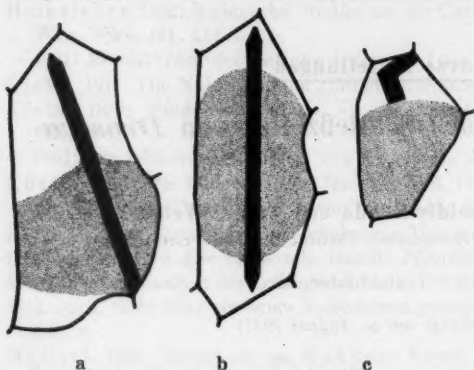


Abb. 2. Epidermis des Fruchtknotens von *Drosera intermedia*. Rhabdoide ragen aus den plasmolysierten Protoplasten heraus.

molyse in Traubenzuckerlösung scheinen die Rhabdoide die sich verkleinern den Protoplasten zu durchstechen (Abb. 2), sie bleiben aber offenbar wie die Eiweißspindeln von *Epi-phyllum* (Küster 1934) und die von *Impatiens* (Küster 1948) von einer zarten Schicht Protoplasma überzogen. Das wird deutlich, wenn man dem im Plasmolytikum liegenden Präparat Jodjodkali-Lösung zusetzt: Das aus dem Protoplasten herausragende kontrahierten Rhabdoid beginnt nach einiger Zeit von der Spitze her sich abzukugeln und zieht sich auf den Hauptteil des Protoplasten zurück, aus dem das verflüssigte Eiweißkristalloid schließlich nur mehr halbkugelig hervorragt (Abb. 3). Dabei wird es deutlich, daß das früher spießige Kristalloid von einem Plasmasaum umgeben war, denn diese Hülle, aus der es sich zurückgezogen hat, wird nun sichtbar und zerfällt in eine Perlschnurkette von Cytoplasmatröpfchen. In anderen Fällen geht die Abkuglung des Kristalloids so vor sich, daß dieses selbst in eine Reihe kleiner Kugeln aus Rhabdoidensubstanz zerfällt, die durch einen dünnen Strang der gleichen Materie verbunden sind.

besten an intakten, durch Zentrifugierung (Weber 1927) mit Wasser infiltrierten (entlüfteten) Kelchblättern. Flächenschnitte durch das Kelchblatt eignen sich weniger zur Untersuchung, weil sich die sehr formlabilen Rhabdoide bei traumatischen Insulten leicht deformieren (abkugeln). Die folgenden Beobachtungen wurden im übrigen meist an der Epidermis des Fruchtknotens gemacht, in der die Rhabdoide häufig größer und leichter zu sehen sind als an den Kelchblättern. Bei Plas-

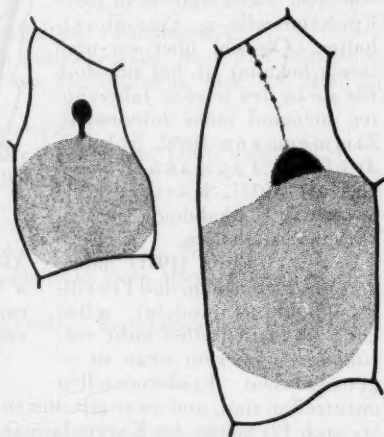


Abb. 3. Epidermis des Fruchtknotens von *Drosera intermedia*. Abkuglung des aus dem plasmolysierten Protoplasten herausragenden Rhabdoids.

Niemals konnten wir sehen, daß bei Plasmolyse in Traubenzuckerlösung das Rhabdoid durch den sich kontrahierenden Protoplasten verbogen wird, wie das Küster bei den Eiweißspindeln von *Epiphyllum* und *Impatiens* gelegentlich gesehen hat; das Rhabdoid von *Drosera* scheint also weniger biegsam zu sein. Unter bestimmten Umständen können aber auch die Rhabdoide deformiert werden. So bei Zusatz von Ammoniakwasser (10%) zur plasmolysierten Zelle: Der Protoplast dehnt sich langsam aus und schiebt dabei den herausragenden Rhabdoidspieß an die Zellwand; er wird dann (bei weiterer Deplasmolyse) merkwürdigerweise nicht in den Protoplasten wieder hineingeschoben, sondern umgebogen (Abb. 2c).

### Zusammenfassung

Während die Epidermiszellen der Kelchblätter von *Drosera* Rhabdoide (Eiweißspindeln) enthalten, fehlen diese den Schließzellen.

Nachtrag in der Korrektur: In der Arbeit von Garjeanne, die uns im Original erst jetzt zugänglich wurde, lesen wir hinsichtlich der Rhabdoide von *Drosera* folgenden Satz: In den Schließzellen der Stomata fehlen sie ganz und immer.

### Literatur

- Gardiner, 1885: On the phenomena accompanying stimulation of the gland cells of *Drosera dichotoma*. Proc. R. Soc. London B. 39.  
 Garjeanne, 1918: Die Rhabdoide von *Drosera rotundifolia* L. Rec. trav. bot. néerl. 15.  
 Kenda, Thaler, Weber, 1951: Kern-Kristalloide in Stomata-Zellen? Protoplasma 40.  
 Küster, 1934: Anisotrope Fibrillenbündel. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 52.  
 — 1951: Die Pflanzenzelle. II. Aufl. Jena.  
 — 1948: Über die Eiweißspindeln von *Impatiens*. Biol. Ztrbl. 67.  
 Schneider, 1922: Botanische Mikrotechnik. Jena.  
 Tunmann-Rosenthaler, 1931: Pflanzenmikrochemie. Berlin.  
 Weber, 1927: Vitale Blattinfiltration. Protoplasma 1.  
 — 1940: Eiweißspindeln von *Valerianella*. Protoplasma 34.  
 Zimmermann, 1892: Botanische Mikrotechnik. Tübingen.

## Viruskörper fehlen den Stomazellen

Von

Friedl Weber

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz)

Mit 4 Textabbildungen

(Eingelangt am 4. September 1951)

Die zuerst von Molisch (1885) beschriebenen Eiweißspindeln, die in der Epidermis von *Epiphyllum* vorkommen, fehlen in den Stomazellen. Rosenzopf (1951) hat auf Grund der Ergebnisse von Impfversuchen die Ansicht vertreten, daß diese Eiweißspindeln Virus-Einschlußkörper (intracellular inclusions) sind. Die *Epiphyllum*-Pflanzen, welche die Eiweiß-



spindeln enthalten, zeigen allerdings äußerlich keine Symptome einer Viruserkrankung; da es aber unter den Pflanzen Virusträger gibt, die selbst nicht erkranken, so kann man aus dem gesunden Aussehen der Epiphyllen keinen Beweis gegen die Auffassung von Rosenzopf ableiten.

Für die Frage, ob die Schließzellen frei von Viruskörpern bleiben, wäre jedenfalls die Feststellung wichtig, ob auch Eiweißspindeln, deren Viruskörpurnatur außer Zweifel steht, in den Stomazellen fehlen, wenn die Spindeln in den übrigen Epidermiszellen vorkommen. In der zusammenfassenden Darstellung von Bawden (1950) über die internal symptoms of in-

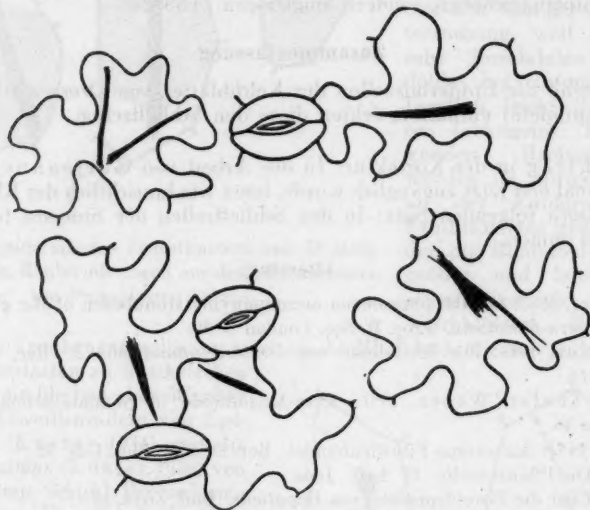


Abb. 1. Epidermis der Unterseite eines viruskranken Blattes von *Solanum Lycopersicum*. In den gewöhnlichen Oberhautzellen Viruskörper, in den Stomazellen keine.

fecte plants sind darüber keine Angaben zu lesen, die Originalliteratur ist mir allerdings nur zum Teil zugänglich.

Im Versuchsgarten des Pflanzenphysiologischen Institutes traten in diesem Sommer an einzelnen Pflanzen von *Solanum Lycopersicum* in starker Ausprägung Krankheitssymptome (Blattrollen, Deformationen) auf. Welches Virus die Ursache der Erkrankung ist, ist fraglich (curly top?). Die Epidermis der Blattunterseite der kranken Pflanzen enthält an vielen Stellen in den gewöhnlichen Oberhautzellen je einen (seltener zwei oder mehrere) stäbchen-, nadel- oder spindelförmige Körper verschiedener Größe (Abb. 1). An manchen von diesen Körpern ist eine faserige Streifung zu erkennen, manche sind an den Enden (oder an einem) aufgefranst. Die Gebilde sind in der Regel gerade, bisweilen gebogen. Doppelbrechung ist an den Spindeln, wohl wegen ihrer Kleinheit, oft kaum nachzuweisen, jedenfalls sehr schwach, in Jodjodkali-Lösung, worin sich die Körper braun färben, wird die Doppelbrechung wesentlich stärker. In Jodchloralhydrat verschwinden die Spindeln unter Verquellung rasch. Die spießförmigen Spindeln müssen ziemlich starr sein, denn bei Plasmolyse werden sie durch den sich kontrahierenden Protoplasten nicht deformiert (Abb. 2). In den Haaren,



worin die Spindeln meist besonders groß werden (Abb. 3), liegen sie meist in der basalen Zelle, manchmal aber auch in der zweiten und dritten Zelle; wenn sie sehr lang werden, können sie schleifig gebogen sein (Abb. 4). Bawden (1950: 48) bringt nach Kassanis und Sheffield ein Bild ähnlich geformter Viruskörper, und zwar aus einer hair cell from tomato plant infected with *Aucuba* mosaic virus.

Gelegentlich findet man zweikernige Zellen; das soll in Geweben viruskranker Pflanzen nicht selten sein (Bawden 1950: 49). Nachdem die Epidermis-Präparate meist so gewonnen werden, daß die Oberhaut in Streifen abgezogen wird, muß allerdings darauf geachtet werden, ob nicht die Zweikernigkeit durch traumatischen Kernübertritt (Lit. bei Linsbauer 1930: 130) zustande gekommen ist. Bei den Präparaten von *Solanum Lycopersicum* war dies offenbar nicht der Fall, da die Nachbarzellen der zweikernigen Zellen alle ihre Zellkerne besaßen. Die Virus-Spindeln lassen sich mit der von Zimmermann (1895: 14) zur Fixierung und Färbung der Eiweißkristalloide ausgearbeiteten Methode mit Säurefuchsin färben.



Abb. 2. *Solanum Lycopersicum*-Epidermiszellen, mit Viruskörpern, plasmolysiert.

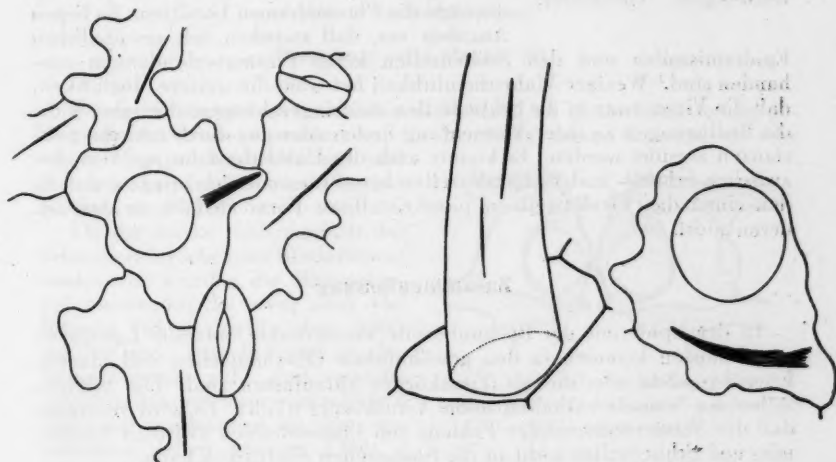


Abb. 3. *Solanum Lycopersicum*-Haarzellen kranker Blätter mit Viruskörpern.

In den Epidermiszellen der Blätter gesunder Pflanzen finden sich solche Körper nicht. In der Liste, die Molisch (1923) von Pflanzen bringt, die Eiweißkristalloide (Spindeln) besitzen, ist *Solanum Lycopersicum* nicht angeführt. Es ist mir nicht zweifelhaft, daß die Eiweißspindeln der erkrankten

Tomatenblätter als Viruskörper anzusehen sind. Hier interessiert nun die Beobachtung, daß diese Körper in den Schließzellen nirgends zu finden sind, auch dann nicht, wenn die übrigen Epidermiszellen (inklusive der Trichome) rings um die Stomazellen durchaus mit den Eiweißspindeln versehen sind.

Die Einschlufkörper werden entweder als Protoplasmaprodukt betrachtet, das infolge der Erkrankung gebildet wird, oder man ist der Meinung, der Viruskörper sei really an intracellular crystallization of the virus itself (Smith 1948). Welche Auffassung auch die richtige sein mag, auf jeden



Abb. 4. *Solanum Lycopersicum*. Haarzelle mit schleifenförmigem Viruskörper.

Fall drängt sich die Frage auf, warum enthalten gerade die Schließzellen keine Viruskörper, obwohl die anderen sie umgebenden Oberhautzellen solche aufweisen. Es wäre möglich, daß dem Cytoplasma der Schließzellen die Fähigkeit, Spindeleiweißstoffe zu bilden, überhaupt abgeht, so daß es auch durch das Virus nicht veranlaßt werden kann, solche zu bilden. Für diese Auffassung können die Befunde von Kenda, Thaler, Weber (1951) und Brat, Kenda, Weber (1951) angeführt werden, nach welchen weder im Cytoplasma noch im Karyoplasma der Stomazellen Eiweißkristalloide vorzukommen pflegen. Es wäre aber auch möglich, daß die Schließzellen von den Nebenzellen so isoliert sind, daß das Virus in die Stomazellen gar nicht eindringen kann. Viruserreger sollen als Wanderwege die Plasmodesmen benützen. Es liegen Angaben vor, daß zwischen den gewöhnlichen

Epidermiszellen und den Schließzellen keine Plasmaverbindungen vorhanden sind.<sup>1</sup> Weniger Wahrscheinlichkeit hat wohl die weitere Möglichkeit, daß die Viren zwar in die Schließzellen eindringen können, dort aber nicht die Bedingungen zu ihrer Vermehrung finden oder gar durch toxische Substanzen zerstört werden. Es könnte auch der Unterschied im  $p_H$ -Wert, der zwischen Schließ- und Epidermiszellen besteht, es mit sich bringen, daß in den einen das Viruseiweiß in parakristalliner Form ausfällt, in den anderen nicht.

### Zusammenfassung

In der Epidermis der Blattunterseite viruskranker *Solanum Lycopersicum*-Pflanzen kommen in den gewöhnlichen Oberhautzellen und Haaren Eiweißspindeln vor, die als Viruskörper aufzufassen sind. Die Schließzellen der Stomata enthalten solche Viruskörper nicht. Es wird vermutet, daß der Viruserreger infolge Fehlens von Plasmodesmen zwischen Epidermis- und Schließzellen nicht in die Stomazellen eindringen kann.

<sup>1</sup> Miehle, 1899: Histologische und experimentelle Unters. über die Anlage der Spaltöffnungen einiger Monokotylen. Botan. Centralbl. 78, 392. Plasmodesmen an den Längswänden der Epidermiszellen von *Hyacinthus*. „Niemals jedoch vermochte ich Verbindungen zwischen den Schließzellen und den umgebenden Epidermiszellen zu finden.“

## Literatur

- Bawden, 1950: Plant Virus and Virus Diseases. Waltham, Mass.  
 Brat, Kenda, Weber, 1951: Rhabdoide fehlen den Schließzellen von *Drosera*. *Protoplasma* 40.  
 Kenda, Thaler, Weber, 1951: Kern-Kristalloide in Stomata-Zellen? *Protoplasma* 40.  
 Linsbauer, 1930: Die Epidermis. Handb. Pflanzenanatomie. IV. Berlin.  
 Molisch, 1885: Über merkwürdig geformte Proteinkörper in den Zweigen von *Epiphyllum*. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 3.  
 — 1925: Mikrochemie der Pflanze. Jena.  
 Rosenzopf, 1951: Sind Eiweißspindeln Virus-Einschlußkörper? *Phyton* 3.  
 Smith, 1948: The Virus, Life's Enemy. Cambridge.  
 Zimmermann, 1895: Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle. I. Tübingen.

## Sekundäre Membranverwachsungen im Bereich der Spaltöffnungen am Blütenstengel von *Narcissus poeticus* L.

Von

Charlotte Thielke

(Aus dem Institut für allgemeine Botanik der Universität Jena)

Mit 10 Textabbildungen

(Eingelangt am 6. August 1951)

Bei der Prüfung von verschiedenem Material zu Unterrichtszwecken gelangte auch *Narcissus poeticus* zur Untersuchung, dessen Stomata mit sehr schön ausgeprägten Hörnchen und Hautgelenken zur Demonstration gut geeignet sind (Abb. 1).

Da der starke Schleimgehalt das Schneiden der lebenden Blätter etwas erschwerte, wurden die Blütenstengel untersucht, die zwar auch viel Schleim führen, dafür aber fester gebaut sind. Hier fiel nun an den Querschnitten auf, daß manche Schließzellen mit ihrer rückwärtigen Zellwand anscheinend an drei verschiedene Zellen grenzen (Abb. 2 links). Hin und wieder war dasselbe auch an den beiden Schließzellen der gleichen Spaltöffnung zu beobachten (Abb. 3).

Die Vermutung, daß solche Schließzellen durch die benachbarte Epidermiszelle hindurch mit der übernächsten in Verbindung treten und dadurch die Nachbarzelle scheinbar in zwei Zellen teilen, ließ sich bei Betrachtung der Flächenansicht bestätigen (Abb. 4). Diese Verbindung betrifft nur etwa das mittlere Drittel der Zellwand (Abb. 2 u. 3). Nach außen und nach innen

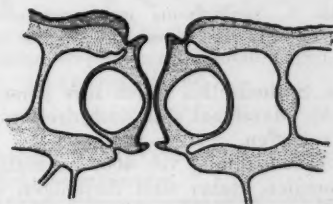


Abb. 1. Normale Spaltöffnung am Blütenstengel von *Narcissus poeticus* im Querschnitt, 500 X.

trennen sich die Wände wieder voneinander und geben der Mittelzelle den Raum frei. In Aufsicht betrachtet, läßt sich bei entsprechender Fokussierung am Verlauf der Zellwand, an dem Vorhandensein eines kontinuierlichen Cytoplasmaschlauches und an den sich darin bewegenden Mikrosomen deutlich erkennen, daß die Teile der Nachbarzelle oberhalb und unterhalb der sie durchstoßenden Schließzelle miteinander kommunizieren. Sehr anschaulich werden diese Raumverhältnisse auch durch die Beobachtung der

kleinen Kristalle, die sich in der Vakuole bald über bald unter der hineinragenden Schließzelle in Brownscher Molekularbewegung befinden.

Diese Anomalien sind bei *Narcissus poeticus* ziemlich häufig. Sie waren in zwei aufeinanderfolgenden Jahren an allen daraufhin angesehenen Pflanzen von sehr verschiedener Herkunft zu finden. Sie sind nicht ausschließlich auf den Blütenschaft beschränkt, denn sie konnten im Laufe sehr vieler Untersuchungen, allerdings nur ganz vereinzelt, auch an den Laubblättern nachgewiesen werden. Am Blütenstengel selber ist der Bereich oberhalb des Hochblattes anscheinend frei von ihnen; im unteren Bezirk dagegen sind diese anomalen Verwachsungen ziemlich gleichmäßig über die ganze Oberfläche verteilt. Manchmal sieht es so aus, als liegen sie streckenweise bevorzugt in einer Längsreihe.

Wenn in benachbarten Zellreihen die Spaltöffnungen in gleicher Höhe liegen, dann kommt es an solchen Stellen häufig zur gegenseitigen Berührung der nebeneinander liegen-

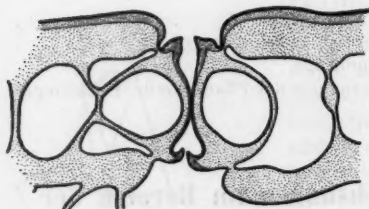


Abb. 2. Spaltöffnung auf der einen Seite mit der übernächsten Epidermiszelle verwachsen, 500 X.

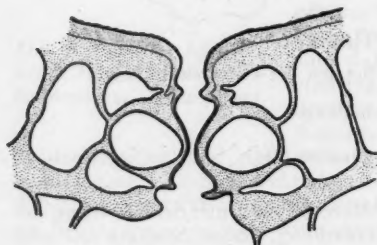


Abb. 3. Spaltöffnung im Querschnitt, beide Schließzellen verwachsen, 500 X.

den Schließzellen durch ihre gemeinsame Nachbarzelle hindurch (Abb. 5 u. 6). Manchmal sind auch drei und vier miteinander verbundene Stomata anzutreffen.

Eine Zählung von 4000 Schließzellen zeigte unter diesen 12,5% solcher anomalen, dabei sind diejenigen nicht mitgerechnet, die mit einer oder mehreren benachbarten Spaltöffnungen in Zusammenhang stehen.

Die jugendliche Epidermis läßt anfangs ganz normale Verhältnisse erkennen, wie sie bei den *Amaryllidaceae* üblich sind (Strasburger 1867: 305). Sobald die Spalte ausgebildet ist, werden die Schließzellen stark turgeszent, wobei sie ihre rückwärtigen Membranen weit in die Nachbarzellen vorspringen lassen; und bei einigen kommt es dann zu einer Berührung mit der nächst äußeren Zellwand.

Auf dem Wege der Grenzplasmolyse mit Rohrzucker wurden die Werte für die Zellsaftkonzentration am frühen Nachmittag bei geöffneten Spalten ermittelt (Tab. 1). Neben ausgewachsenen Organen kamen auch jugendliche Gewebe zur Untersuchung, bei denen die Epidermiszellen etwa ein Drittel

ihrer endgültigen Länge erreicht hatten. Gleichzeitig wurden auch die entsprechenden Altersstadien der Laubblätter in Rohrzuckerlösungen beobachtet.

In schwach hypertonischen Rohrzuckerlösungen pflégten sich die Protoplasten der normalen Epidermiszellen gut abzurunden; alle Schließzellen jedoch bekamen an ihrer Außenwand meistens in der Mitte nur eine Eindellung (Abb. 7). Zu einer konkaven Plasmolyseform kam es bei diesen erst in stärker konzentrierten Lösungen.

Bei einem Epidermisabzug wurden meist sehr viele Zellen geschädigt und starben bald ab; die Schließzellen dagegen behielten in der Regel ihre volle Turgeszenz. An solchen Präparaten ließ sich gut erkennen, daß es bei der

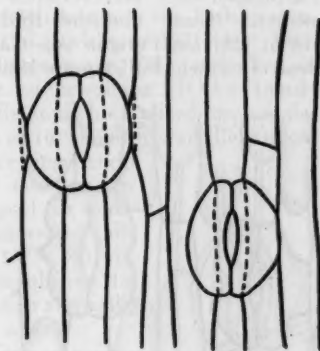


Abb. 4. Epidermis mit durchgewachsenen Schließzellen in Aufsicht, 300 X.

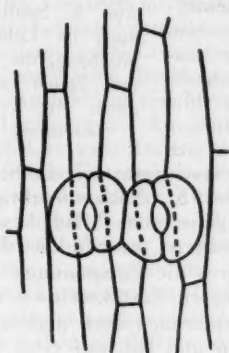


Abb. 5. Jugendliche Epidermis mit zwei gegeneinander stoßenden Spaltöffnungen, 300 X.

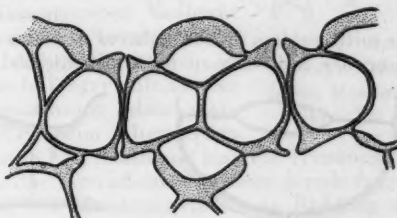


Abb. 6. Jugendliche Epidermis mit zwei miteinander verwachsenen Spaltöffnungen im Querschnitt, 500 X.

Tab. 1. Eintritt der Grenzplasmolyse bei Schließzellen und gewöhnlichen Epidermiszellen in volumolaren Rohrzuckerlösungen.

	Blütenstengel		Laubblatt	
	Schließzellen	Epidermiszellen	Schließzellen	Epidermiszellen
Jugendliche Epidermis . . .	1,2 mol (45,4 atm)	0,5—0,6 mol (14,3—17,8 atm)	0,8 mol (25,5 atm)	0,5—0,6 mol (14,3—17,8 atm)
Ausgewachsene Epidermis . . .	0,8 mol (25,5 atm)	0,5—0,6 mol (14,3—17,8 atm)	0,8 mol (25,5 atm)	0,5—0,6 mol (14,3—17,8 atm)

Berührung der beiden Zellwände durch die Nachbarzelle hindurch zu einer echten Verwachsung kommen kann, denn die Membranen der toten, entspannten Zellen wurden von den Stomazellen bis fast zur Mitte der



Nachbarzellen eingezogen (Abb. 8). Mitunter sind diese Zellen durch zapfenförmige Zwischenstücke miteinander verbunden, die teils noch cytoplasmatischen, teils schon membranartigen Charakter haben, wie Färbungen mit Methylviolet und Toluidinblau bewiesen. (Ganz ähnliche Bildungen hatte Leitgeb [1886: 128] am Perigon von *Galtonia candicans* gefunden.) In einem Fall konnte beobachtet werden, daß die

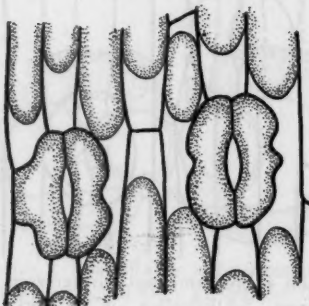


Abb. 7. Ausgewachsene Epidermis mit 1,0 mol Rohrzucker plasmolysiert, 300  $\times$ .

Verbindung in drei plasmatischen Strängen bestand, in denen deutlich Bewegung von Mikrosomen erkennbar war (Abb. 9a). Auch hier war die Außenwand der Nachbarzelle etwas eingezogen und an dieser Stelle mit einer dicken Plasmaauflagerung versehen. Während einer einstündigen Beobachtung wurden die Plasmastränge immer dünner, wobei sich

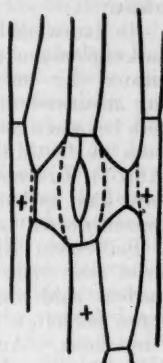


Abb. 8. Spaltöffnung im Epidermisabzug, die toten Zellen sind durch ein Kreuz bezeichnet.

der mittlere dem linken näherte und sich mit ihm vereinigte; und die Strömung der Mikrosomen hörte allmählich auf (Abb. 9b). Nach vorsichtiger

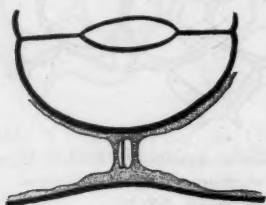


Abb. 9. a: Drei Plasmastränge verbinden die Schließzelle mit der über-nächsten Epidermiszelle.



Abb. 9. c: Dasselbe nach Alkoholzugabe.



Abb. 9. b: Dasselbe nach einer Stunde.



Abb. 9. d: Am gleichen Ort einer anderen Spaltöffnung sind kleine Membranzapfen entstanden.

Zugabe von Alkohol vermochten die Fäden dem durch die Entspannung bedingten Zurückweichen der Membranen noch nachzugeben und sich auf etwa die zweifache Länge auszudehnen. Einer der beiden Stränge riß dann schließlich durch (Abb. 9c).

In einem anderen Fall waren am gleichen Ort beiderseits kleine Membranzapfen vorhanden, die durch zarte Plasmabrücken miteinander verbunden wurden (Abb. 9d). Und an einer weiteren Spaltöffnung war hier ein solider Membranbalken zu finden, der im polarisierten Licht deutlich Doppelbrechung erkennen

ließ und der sich auch nach dem Absterben nicht mehr veränderte (Abb. 10).

Bei diesen Anomalien haben wir es mit einer endogenen Zellwandverwachsung zu tun (Küster 1935: 522). Ein solcher Fall liegt unter anderem bei manchen kalkfreien Cystolithen von Acanthaceen vor, bei denen die sogenannten „sekundären Stiele“ als Produkte einer z. T. wohl durch Berührung entstandenen Verwachsung des Cystolithen mit der Lithocystenwand aufzufassen wären (Molisch 1882: 1; Linsbauer 1921: 41). Weiter ist in diesem Zusammenhang das Vorkommen von Zellulosebalken in den Schließzellen gebürsteter Erlenblätter zu erwähnen (Haberlandt 1925: 198), die infolge der mechanischen Reizung hier allerdings an der Peripherie des Kernes entstehen. Verf. hält es für möglich, daß die Außenwände der Schließzellen beim Bürsten etwas eingedrückt werden können. Der Zellulosebalken tritt auch an der Bauchwand zuerst auf. Und ein anderes Beispiel für solche endogenen Verwachsungen stellen möglicherweise die Sanioschen Balken dar (Sanio 1863: 117, 1873: 58), die nach Raatz (1892: 585) vielleicht bei der Berührung der beiden tangentialen Wände miteinander in einer zeitweilig kollabierten Kambiumzelle entstanden sein mögen.

Im Vergleich mit den oben genannten Verwachsungen bleibt bei den Anomalien der Stomata am Blütenschaft von *Narcissus poeticus* auffällig, daß die Zellwände in den meisten Fällen direkt miteinander verwachsen, während die Ausbildung von Membranbalken und -strängen sehr viel seltener ist. Am Perigon von *Galtonia* dagegen sind nach Leitgeb letztere ausschließlich vertreten. Vielleicht sind diese Unterschiede durch schwankende Turgorverhältnisse während der Entwicklung bedingt. So können in einem Fall (*Narcissus*) die Zellwände länger aufeinander gedrückt bleiben, so daß die Verwachsung schon abgeschlossen ist, wenn die Schließzellen beim Älterwerden ihren Turgor senken. Und im anderen Fall (*Galtonia*) mag die Trennung der Membranen schon einsetzen, wenn die Verwachsungsprozesse gerade begonnen haben, so daß die Anlagerung von Membransubstanz in Richtung der auseinanderweichenden Zellwände vor sich geht und zu den erwähnten Membranfäden und -leisten führt. Eine experimentelle Beeinflussung der Entstehung dieser Gebilde könnte zu einer Klärung der oben genannten endogenen Verwachsungen beitragen, und vielleicht besteht hier auch ein Weg, die immer noch problematische Entstehung von Sanioschen Balken protoplasmatisch zu fassen.



Abb. 10. Spaltöffnung mit einem festen Membranbalken, 300  $\times$ .

#### Literatur

- Haberlandt, G.: Über das Verhalten der Schließzellen gebürsteter Laubblätter von *Alnus glutinosa*. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 43, 198, 1925.
- Küster, E.: Die Pflanzenzelle. Jena 1935.
- Leitgeb, H.: Beiträge zur Physiologie der Spaltöffnungsapparate. Mitt. Bot. Inst. Graz 1, 125, 1886.
- Linsbauer, K.: Über die kalkfreien Cystolithen der Acanthaceen. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 39, 41, 1921.
- Molisch, H.: Über kalkfreie Cystolithen. Österr. Bot. Ztschr. 11, 1, 1882.

Raatz, W.: Die Stabbildungen im sekundären Holzkörper der Bäume und die Initialtheorie. Jahrb. wiss. Bot. 23, 567, 1892.

Sanio, C.: Vergleichende Untersuchungen über die Elementarorgane des Holzkörpers. Bot. Ztg. 21, 85, 1863.

— Anatomie der gemeinen Kiefer (*Pinus sylvestris*) II. Jahrb. wiss. Bot. 9, 50, 1873.

Strasburger, E.: Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Spaltöffnungen. Jahrb. wiss. Bot. 5, 297, 1867.

### Referate

**Brøndsted, H. V., and F. E. Carlsen: A cortical cytoskeleton in expanded epithelium cells of sponge gemmules.** Expt. Cell Res. 2, 90—96 (1951).

Elektronenmikrogramme scheinen das Vorkommen eines fibrösen Zellskelets in der Rinde des basalen Epithels von Schwammgemmulae zu belegen.  
H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Cornman, I.: Ryanodine and contractile phenomena in the mitotic spindle.** Expt. Cell Res. 2, 256—262 (1951).

Spontane Kontraktionen in explantierten Herzmuskelgeweben der Maus werden gebremst durch 1—2 mg/ml des Mittels, d. h. eine auch Mitosen aufhebende Konzentration. Bei der Teilung von *Echinarachnius*-Eiern wird die Chromosomenbewegung durch 6—8 mg aufgehoben. Solche Befunde werden verständlich mit der Annahme einer Hemmung der „Zugfaser“-Kontraktion durch das Mittel (ohne daß sie aber als ein brauchbares Argument für die Zugfaserhypothese gewertet werden könnten. Ryanodin ruft also ähnlich wie Heparin, Hiridin u. a. nach Versuchen des Ref., über die in Pubbl. Staz. Zool. Napoli 23, Suppl., berichtet werden wird, eine Störung der Fibrogenese des Spindelplasma hervor; ob es wie jene Mittel auch die Fibrinbildung bei der Blutgerinnung hemmt, wäre noch zu prüfen).

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Gavaudan, P., et G. Brebion: L'échelle des inhibitions fonctionnelles dans la cellule végétale.** Expt. Cell Res. 2, 158—164 (1951).

Die vergleichende Analyse der narkotisch oder durch kinetoklastische Substanzen bedingten Erscheinungen zeigt ihre Entstehung durch verschiedene Mechanismen, die relative Unabhängigkeit der einen von den anderen und innerhalb eines bestimmten Aktivitätsbereiches, wobei den allgemeinen Strukturen, insonderheit jener der Lipoproteine, besondere Bedeutung zukommt.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Großfeld, H. D.: Cell permeability to electrolytes in tissue culture.** Expt. Cell Res. 2, 141—143 (1951).

An Fibroblasten aus explantierten Herzmuskeln von Hühnchenembryonen ohne und nach Färbung mit Neutralrot 1 : 20 000 werden für Na und K die lyotropen Serien  $SO < Br < Cl < I < SCN < OH$  nachgewiesen. Die Atmung der Zellen steigert ihre Anionenaufnahme, und die Zellpermeabilität für Elektrolyte ist wegen dieser Verknüpfung als entscheidender Teil des gesamten Zellmetabolismus anzusehen.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Guttenberg, Hermann von: Lehrbuch der allgemeinen Botanik.** Mit 630 Abb., 6 Taf., XVI u. 640 S. DM 23.—. Berlin: Akademie-Verlag 1951.

Nur mit großer Energie kann es heute ein Forscher noch wagen, den Riesenstoff der allgemeinen Botanik (innere und äußere Morphologie, Physiologie) lehrbuchmäßig darzustellen. Dieses Wagnis kann nur dem  
Protoplasma, Bd. XL/3—4.

gelingen, der für Morphologie und Physiologie in gleicher Weise Sinn und Interesse hat und über eine lange Erfahrung im Unterricht verfügt. Guttenberg, der aus der Schule Haberlandts hervorgegangen ist, ist seit jeher in seinem vielseitigen Forschen und Denken zu einer erfolgreichen Synthese morphologischer und physiologischer Betrachtungsweise befähigt, und so ist ihm selbst unter den schwierigen Arbeitsbedingungen der Nachkriegszeit, das Lehrbuch in bewundernswerter Weise gelungen. Sein didaktisches Talent und die Notwendigkeit, allein an seiner Lehrkanzel die Hörer in das Gesamtgebiet der allgemeinen Botanik einzuführen, ließen ihn ein Lehrbuch schaffen, das dem Studierenden wirklich all das bringt, was er braucht. Es bietet die Materie in einer Form, die, ohne den Schwierigkeiten des Stoffes auszuweichen, dem Anfänger zugänglich ist und doch auch dem Fortgeschrittenen den Weg zu weiterem, speziellerem Studium weist. Die Vorlesung über allgemeine Botanik wird meist schon in den ersten Semestern gehört, und zwar nicht nur von Botanikern, sondern auch von Pharmazeuten, Medizinern und Landwirtschaftlern. Alle diese Hörerkreise werden dieses Lehrbuch gerne und mit Nutzen als Lernbuch zur Hand nehmen. Es konnte schon mit Rücksicht auf die Heterogenität der Hörschaft der Vorlesungen, aus denen das Buch hervorging, nicht im Plan des Buches liegen, bei Auswahl und Gruppierung des Stoffes besondere, neue Wege zu gehen; trotzdem fehlt dieser „Allgemeinen Botanik“ die individuelle Note nicht. Erfreulich ist vor allem, daß die Pflanzenanatomie, die heute vielfach zu einem Stiefkind des Unterrichtes geworden ist, wieder zu Ehren kommt. Die Cytologie erfährt eine liebevolle Behandlung, und dies ist ja auch ein Grund, der eine Besprechung des Buches in Protoplasma rechtfertigt. Bei der Einteilung der Bestandteile der Zelle sollte nicht zwischen Lebend und Tot, sondern zwischen Lebend und Leblos unterschieden werden. In der Histologie folgt Guttenberg der „Physiologischen Anatomie“ Haberlandts, an deren Ausbau er ja seit je wichtigen Anteil genommen hat. Dabei tritt natürlich die funktionelle Betrachtungsweise stark in den Vordergrund. Vielleicht kann der Anfänger nicht immer erkennen, wieviel daran Hypothese ist, heute noch wie zu Haberlandts Zeiten. Die Einheitlichkeit der Anatomie wurde dadurch gelockert, daß die Anatomie der Organe bei den entsprechenden Abschnitten der Organographie behandelt wird. Das hat gewiß manches für sich, bringt es aber mit sich, daß die Anatomie der Organe in den Abschnitt „Morphologie der äußeren Gestalt“ eingewiesen wird. Beim Hautsystem wird in origineller Weise zwischen äußeren Häuten und inneren Häuten unterschieden, zu den letzteren wird erstens die Endodermis gerechnet, ein „zweitens“ folgt allerdings nicht. In der Physiologie haben die Phytohormone und ihre Bedeutung gebührende Darstellung gefunden. Im Kapitel „Physiologie der Vererbung“ finden wir eine Würdigung der Lehre Mitschurins. In dem Kapitel „Stoffliche Zusammensetzung der Pflanze“ vermissen wir eine etwas breitere Behandlung der Vitamine, die besonders für die Mediziner wichtig wäre. Auch eine ausführliche Darlegung des Virusproblems in seiner wichtigen, biologisch vielseitigen Bedeutung wäre erwünscht. Die Mehrzahlbildung „Vira“, die es im Lateinischen nicht gibt, sollte vermieden werden. Auch über Antibiotika würden sicherlich die Studierenden gern etwas mehr lesen.

Die sonst oft totgeschwiegene Embryologie und Entwicklungsgeschichte der Organe kommt erfreulicherweise zu Wort, die Tunica-Corpus-Theorie findet dabei nur ganz kurze Erwähnung. In der Morphologie wird in der nächsten Auflage wohl auch die Telomtheorie behandelt werden sollen.

Das Abbildungsmaterial, das sich in Lehrbüchern im allgemeinen nur sehr langsam zu erneuern pflegt, ist in Guttenbergs Buch reich, gediegen und einheitlich gestaltet, besonders in der Histologie ist es durch eine Reihe vorzüglicher Neuzeichnungen vertreten.

F. Weber (Graz).



**Hartmann, J. Fr.: Electron microscopy of myelin sheath in sections of spinal cord.** Expt. Cell Res. 2, 126—132 (1951).

Nach Elektronenmikrogrammen von Ratten besteht die Scheide aus konzentrischen Lagen größerer Elektronendichte von 120 und geringerer von 61 Å Dicke, deren Breite zwischen 540 und 1150, deren Länge zwischen 900 und 1700 Å schwankt. Offene Stellen dieser dachziegelig übereinandergreifenden Lagen sind nur gelegentlich gefunden worden und werden eher als Einbettungs- denn als Fixationsartefakte angesehen.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Küster, Ernst: Die Pflanzenzelle.** Vorlesungen über normale und pathologische Zytomorphologie und Zytogenese. Mit 442 Abb. i. Text. Zweite, neu bearb. Aufl. XI u. 866 S. Jena: Fischer 1951. Geb. DM 54.—.

Als dieses Werk 1935 zum erstenmal erschien, hieß es von ihm, daß es nur einer schreiben konnte, nämlich Küster. Jeder, der seitdem die rasche, ja oft stürmische Weiterentwicklung der Lehre von der Pflanzenzelle verfolgt hat, mußte fürchten, daß eine zweite Auflage nicht mehr möglich sein würde. Und doch: Küster hat sie mit einem alle Widerstände überwindenden Elan, mit einer, man kann nur sagen, jugendlichen Energie geschaffen. Er kann sicher sein: es dankt ihm dafür die Wissenschaft. Die Stoffanordnung ist in der zweiten Auflage die gleiche geblieben. Das konnte auch gar nicht anders sein, denn sie war damals schon meisterhaft. Was aber alles in diesen großartigen Rahmen eingefügt wurde, und zwar nicht etwa hineingeflickt, sondern harmonisch eingebaut, ist bewundernswert. Auch auf Gebieten, von denen man glaubt, die Literatur selbst gut zu kennen, läßt man sich gerne in diesem Buche belehren, daß Küster sie ja doch viel besser kennt. In rebus biologicis besteht der Fortschritt, wie man zugeben muß, sehr häufig nicht darin, daß Fragen beantwortet, Probleme endgültig gelöst werden, vielmehr in der Einsicht, daß man sich Strukturen und Vorgänge zunächst viel zu einfach vorgestellt hat, daß sie in Wirklichkeit aber wesentlich komplizierter sind. Küster hat dies nirgends verschleiert, er weist mit unerbittlicher Offenheit auf die Lücken und schwachen Stellen hin, die das Gebäude der Wissenschaft immer wieder gefährden und baufällig machen. So wie der lebende Organismus, so muß auch die Lehre von ihm einen Stoffwechsel haben. Küster scheut sich nie, wo es nötig ist, einzureißen, um- und wieder aufzubauen. So ist sein Buch jung geblieben und wieder eine Aufforderung an die forschende Jugend geworden, weiter zu bauen, selbst wenn die Arbeit oft eine Sisyphusarbeit zu werden droht; sie ist es ja schließlich doch nicht, und einmal werden die Steine oben bleiben auf den Fundamenten, die Küster geschaffen und verstärkt hat.

F. Weber (Graz).

**Lamb, W. G. P.: The isolation of threads from interphase nuclei.** Exper. Cell Res. 571—581, 1950.

In einem Homogenisier- durch Zerreiben mit Sand und in einem Waring-Mischer sind die Kerne mit dem Ziel der Darstellung isolierter Chromosomen (vgl. Mirsky a. Ris, J. Gen. Physiol. 31, 1, 1947; — Ref., Experientia 6, 354, 1950) behandelt worden. Es werden Fäden erhalten, welche aus Mischungen von Kernmaterialien fragmentarischen Charakters bestehen und nur geringe Verwandtschaft mit intermitotischen Chromosomen aufweisen.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Leyon, H.: Some physico-chemical properties of spontaneous mouse encephalomyelitis virus, strain FA.** Expt. Cell Res. 2, 207—223 (1951).

Die Sedimentationskonstante (160—165 S) wird den Teilchen zugeschrieben, welche elektronenmikroskopisch Durchmesser von 28  $\mu$  zeigen

und in Lösung zu Haufen verschiedener Größe aggregiert werden. Die UV-Absorptionskurve gereinigter Präparate entspricht etwa einer solchen von Nukleoprotein. Außerdem werden Kurven der  $p_H$ -Stabilität und der thermalen Inaktivierung (entsprechend einer monomolekularen Reaktion der Aktivierungsenergie von 34 500 cal/Mol) mitgeteilt.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Lindahl, P. E., B. Swedmark and J. Lundin: Some new observations on the animalization of the unfertilized sea urchin egg.** Expt. Cell Res. 2, 39—46 (1951).

Bei Vorkommen von SCN-Ionen in Ca-freiem Seewasser wird der Vorgang an *Paracentrotus lividus* durch helles Tageslicht inhibiert, wobei gewisse Unterschiede im Verhalten verschiedener Materialien auf ungleiche Proteinlöslichkeit in eisgekühltem 0,54 mol NaI zurückgeführt werden.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Lindegren, C. C.: The relation of metaphosphate formation to cell division in yeast.** Expt. Cell Res. 2, 275—278 (1951).

Vor der Knospung der Hefe wird das Phosphat in Metaphosphat übergeführt und erscheint in Chromosomen und Nucleolus; ohne genügenden Metaphosphatgehalt resultiert nur reduziertes Wachstum. (Zitiert wird des Verfassers Buch: The yeast cell, its genetics and cytology, St. Louis 1949.)

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Lumsden, C. E., and C. M. Pomerat: Normal oligodendrocytes in tissue culture. A preliminary report on the pulsatile glial cells in tissue cultures from the corpus callosum of the normal adult rat brain.** Expt. Cell Res. 2, 103—114 (1951).

Als Oligodendrocyten zu deutende Zellen der Wachstumszone der Explantate zeigen rhythmische Pulsation, welche wahrscheinlich in Präparaten aus menschlicher Großhirnrinde wiederkehrt und an Zeitrafferaufnahmen mikrokinematographisch zu analysieren versucht wird.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Maly, Roland: Cytomorphologische Studien an strahleninduzierten, konstant abweichenden Plastidenformen bei Farnprothallien.** Zeitschr. indukt. Abst. u. Vererbungslehre 83, 447—478, 1951.

In umfangreichen Versuchsreihen wurden Änderungen der Form, Struktur und Anordnung der Plastiden in Zellen von *Polypodium-aureum*-Prothallien verfolgt, die aus bestrahlten Sporen hervorgegangen waren. Die Sporen wurden trocken und feucht mit Röntgen-,  $\gamma$ - und UV-Strahlen vorbehandelt. Prothallien mit abnormen Plastidenerscheinungen wurden isoliert und bei fortgesetzter vegetativer Vermehrung in Klonkulturen auf 1%igem Bennecke-Agar in Petrischalen zum Teil über drei Jahre gezogen. Die Plastidenänderungen erwiesen sich dabei, auch unter den schwankenden Außenbedingungen, als völlig konstant.

Während die unbestrahlten Kontrollen eine die Plastidenausbildung betreffende Abweicherrate von 0,01% zeigen, wird diese an den trocken bestrahlten Sporen bei einer Dosis von 5000 r bis auf ca. 0,1% und bei 15 000 r sogar bis auf ca. 0,3% erhöht. Bestrahlung der gequollenen Sporen ist noch wirkungsvoller und ergibt in einzelnen Fällen Abweicherraten bis zu 0,69%. Behandlung mit  $\gamma$ -Strahlen erbrachte durchschnittlich Abweicherraten von

0,23% und 15 bis 30 Minuten lange Bestrahlung mit dem gesamten Spektralbereich einer Analysenquarzlampe eine solche von 0,07—0,197%.

Nach dem Erscheinungsbild der Plastiden wurden die abweichenden Klone in 20 verschiedene Abweichtypen geordnet. So zeigten manche Klone auffallend große Plastiden mit großen Stärkekörnern, in anderen waren die unregelmäßig geformten Plastiden dünner als normal und durch zarte Fäden untereinander verbunden, in wieder anderen hatten sie ein dick amorphes Aussehen und verschmolzen in älteren Zellen durch Fusion zu einer einzigen Plastidenplatte. Andere Plastidenabweicher sind durch kugelige Form, durch grobbucklige Oberflächen, durch amöboides, vielgestaltiges Aussehen, durch Auftreten einer stark vergrößerten Granstruktur, durch besondere Größe oder Kleinheit oder durch verschiedenartige Gruppierung (Ballung, Klumpung, Kettenbildung) ausgezeichnet.

Bei der großen Konstanz der Plastidenformen innerhalb der Cormophyten kommt diesen strahleninduzierten, sich intrazellulär manifestierenden mutativen Veränderungen der Chloroplasten besonderes Interesse zu. Mit den gefundenen Abweichtypen wurden auch eine größere Anzahl von Kreuzungen durchgeführt, doch war bei Abschluß der Arbeit die Sporophytenentwicklung noch nicht so weit vorgeschritten, daß daraus schon endgültige Schlüsse auf die genetische Bedingtheit der Plastidenänderungen hätten gezogen werden können.

R. Biebl (Wien).

**Marshak, A.: Chromosome structure in *Escherichia coli*.** Expt. Cell Res. 2, 243—251 (1951).

Die großteiligere zweier Fraktionen ultrabeschalteter Bakterien ist infolge eines schwarzen Pigments nicht färbbar, in einer Matrix unbekannter Herkunft eingebettet und in intakten Bakterien Feulgen-positiv; sie zeigt einen geringeren Gehalt an Adenin, Guanin und Uracil und einen höheren an Thymin, so daß die Konzentrierung der nuclearen Substanzen in dieser Fraktion vermutet wird, zumal auch elektronenmikroskopisch Strukturen nach Art von Chromonemata gefunden werden.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Mazia, D., and H. L. Hirshfield: Nuclear-cytoplasm relationships in the action of ultraviolet radiation on *Amoeba proteus*.** Expt. Cell Res. 2, 58—72 (1951).

Untersucht wurden der Einfluß von UV-Strahlung auf Teilungsrate, -vermögen und das Überleben intakter Zellen und kernhaltiger und -freier Zellhälften mit *Chilomonas* gefütterter Amöben. Die Wirkung der Strahlung beginnt mit einer reversiblen Teilungsverzögerung und steigert sich beim Amputieren der Tiere; die Lebensdauer wird durch UV-Sterilisierung auf 20—30 d. und nach Amputieren je nach verbleibender Größe weiter begrenzt. Vermutlich sind an den Wirkungen Komponenten des Kerns wie des Plasmas gleichermaßen beteiligt. H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Moore, A. R.: Action of trypsin on the eggs of *Dendroaster excentricus*.** Expt. Cell Res. 2, 284—287 (1951).

Eine  $3 \cdot 10^{-8}$  mol oder höhere Konzentration der kristallisierten Substanz ruft Befruchtungsmembranen wie bei künstlicher Parthenogenese hervor, aber bei mehrstündig fortgesetzter Einwirkung digestive Veränderungen. Befruchtete Eizellen segmentieren sich dabei und bilden unregelmäßige Zellmassen. Befruchtung der Eier führt zu Trypsinresistenz.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Pfeiffer, Hans H.: Neue Versuche zur Leptonik intermitotischer Zellkerne.** Expt. Cell Res. 2, 279—283 (1951).

Ausstriche von Zellkernen werden vor und nach Behandlung mit digestierender Reinsnuclease polarisationsoptisch und in Imbibitionsversuchen auf ihr Verhalten als Wienerische Mischkörper untersucht. Aus Ermittlungen des Produkts der Partialvolumina ihrer Stäbchen und Lücken werden ungefähre Werte des Orientierungsgrades der Nucleinsäure- und der Polypeptidketten errechnet, und aus Kurvenscharen der Doppelbrechung von Präparaten verschiedener Dehnungsgrade ergibt sich für die Beziehung zwischen Orientierungsgrad der Leptonen und der Dehnung der Ausstriche eine Sättigungskurve, welche sich mit einer solchen zwischen Länge der Leptonen und Dauer der Hitzeeinwirkung vergleichen läßt und die Entwicklung molekularer Bindungen in vielleicht zwei abgestuften Prozessen wahrscheinlich macht. (Autorreferat).

**Ris, H., and A. E. Mirsky: Isolated chromosomes.** Expt. Cell Res. 2, 263 bis 267 (1951).

Aus Leber, Pankreas, Niere und Thymus von Säugern isolierte Nucleoproteinfäden sind mindestens teilweise als intermitotische Chromosomen oder deren Fragmente zu deuten (vgl. Bestätigung durch ihr polarisationsoptisches Verhalten nach Versuchen des Ref. in *Experientia* 6, 334, 1950); ähnliche Strukturen werden in intakten Kernen aufzufinden versucht. H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Rozsa, G., A. Szent-Györgyi and R. W. G. Wyckoff: The fine structure of myofibrils.** Exper. Cell Res. 1, 194—205, 1950.

Elektronenmikrogramme der Myofibrillen gestreifter Muskeln (*Lepus cuniculus*) ergeben Bündel langer Filamente, welche wechselseitig von strukturlosem Material durchdrungen werden; letzteres soll die Segmentierung des Muskels bedingen. Viele weitere Details über die Komponenten der Myofibrillen, des Sarcolemma und die mit diesem verbundenen dickeren Fasern werden in Bildern gezeigt.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Runnström, J., and G. Kriszat: Action of periodate on the surface reactions attending the activation of the egg of the sea urchin, *Psammechinus miliaris*.** Exper. Cell Res. 1, 355—370, 1950.

Wirkungen einer Lösung der Gelmantelsubstanz der Eier (Ausbleiben der Befruchtungsmembran, der Eikontraktion, koagulativer Erscheinungen usw.) werden durch Zusatz von  $5 \cdot 10^{-5}$  n Natriumperiodat aufgehoben. Das Mittel übt ferner einen gewissen aktivierenden Effekt auf reife Eier aus; Oocyten werden dadurch in kernhaltige und -freie Teile getrennt.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Runnström, J., and G. Kriszat: On the effect of adenosine triphosphoric acid and of Ca on the cytoplasm of the egg of the sea urchin, *Psammechinus miliaris*.** Exper. Cell Res. 1, 284—303, 1950.

Die Wirkung der Agentien wird zentrifugenmikroskopisch an der Stratifikation der unbefruchteten Eier gemessen. Ihre Stratifikation wird mehr durch Rigidität als durch Viskosität bestimmt. Die Rigidität wird noch gesteigert durch Zusatz von 0,003 m Adenosintriphosphorsäure [wahrscheinlich durch Vermehrung der Verkettungen zwischen bestimmten Komponenten des cytoplasmatischen Gefüges] und ist höher in Ca-freiem

als in Meerwasser. Mit Ca-freiem Wasser vorbehandelte, starker Hypotonie ausgesetzte Eier ergeben bei Ca-Zusatz zahlreiche hyaline Blasen, welche wohl durch Anschwellen von Lipoproteinkomplexen auftreten. Weiter ruft Ca eine stärkere Koagulation der Eioberfläche und des fibrillaren Gerüstwerkes des Cytoplasmas hervor. Zusatz der Adenosintriphosphorsäure führt ebenfalls zu Blasenbildung, zusammen mit Ca ferner zu koagulativen Effekten und Trennung einer Art Befruchtungsmembran.  
H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Schmidt, W. J.: Beiträge zum Gold- und Kupferdichroismus von Kollagen und Chitin.** Z. w. Mikrosk. 60, 128—132 (1951).

In Ergänzung zu seinen früher an dieser Stelle mitgeteilten Untersuchungen (s. Protoplasma 35, 55, 1940) werden als weit günstigere Objekte in Fibrillen auflösbare Chitinfasern von Insekten und Kollagenfasern aus dem Mäuseschwanz benutzt. Bestätigt wird die Annahme, daß der Metaldichroismus durch submikroskopische oder mikroskopische, optisch anisotrope, orientiert eingelagerte Partikel einer Verbindung mit dem betreffenden Metall hervorgerufen wird. Über die Messung des Stäbchendichroismus für Wienerische Mischkörper Cellulose/Ag durch Frey-Wyssling und O. Wälchi (J. Polymer. Sc. 1, 266, 1946) wird anhangsweise — hinsichtlich der Deutung ablehnend — berichtet.  
H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Snellman, O., and B. Gelotte: An investigation of the physical chemistry of the contractile proteins.** Exper. Cell Res. 1, 234—252, 1950.

Elektronenmikroskopische und andere strukturmethologische Untersuchungen an kristallisiertem Myosin, Actin und Actomyosin werden auf eine noch zu erarbeitende Kontraktionshypothese ausgewertet. Dabei müssen die leptonische Ähnlichkeit zwischen Actomyosin und Keratin, die Möglichkeit schwacher Kontraktion auch bei unvollkommener Ausrichtung der Leptonen der Muskelfaser, die Darstellung eines nicht kontraktile F-Actomyosins, die Notwendigkeit des Vorkommens von F-Actin zur Kontraktion, der Wechsel in der Actinkette bei extensiver Kontraktion und die hier postulierte Beziehung zwischen Kontraktion und Synärese berücksichtigt werden. Auch ohne Darlegung der Arbeitshypothese der Kontraktion ist ein leptonischer Bauplan mitgeteilt worden, der jene Anforderungen vereinen soll.  
H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Sylvén, B.: The cytoplasm of living tissue mast cells in visual phase-contrast.** Exper. Cell Res. 1, 492—495, 1950.

Die Methode erlaubt die deutliche Unterscheidung großer sphärischer Granula, diffus zerstreuter amorpher Grundsubstanz und eingestreuter hyaliner Stellen, nicht aber von Zellmembranen; Kerne sind an Zellen des Rattenmesenteriums schwach erkennbar.  
H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Troll, Wilhelm: Das Virusproblem in ontologischer Sicht.** Mit 40 Abb. u. 156 S. Wiesbaden: F. Steiner, 1951. DM 16.—.

Das Virusproblem ist nicht etwa nur für Mediziner und Phytopathologen von Interesse, im Gegenteil, es gibt kaum ein Forschungsgebiet, dem für die Grundfragen der Biologie eine so große Bedeutung zukommt. Das scheint nicht allgemein erkannt zu werden, denn viele Lehrbücher z. B. der Botanik gehen an den Fragen, die durch die Virusforschung aufgeworfen werden, achtlos oder doch nur mit wenigen Worten hinweg. Es ist daher sehr zu begrüßen, daß Troll für die Biologen die prinzipielle Bedeutung dieser Fragen



mit kritischer Durchdenkung dargelegt hat. Die Viren stellen kein einheitliches Reich dar, sie werden vielmehr mit guten Gründen geschieden in zwei wesensverschiedene Gebilde: Die Euviren sind Nucleoproteid-Makromoleküle, die Pseudoviren Mikroorganismen, die knapp an oder unter der lichtmikroskopischen Sichtbarkeitsgrenze liegen. Die Kluft, die die Welt des Lebens von der leblosen Sphäre trennt, zieht auch durch den neu erschlossenen Bereich der Wirklichkeit hindurch. Das Organismenreich hat sich zwar durch die Kenntnis der Pseudoviren nach unten erweitert, „in sich ist es aber ebenso abgeschlossen geblieben wie ehemals“. Die Euviren gehören nicht dazu. Die Wissenschaft ist nicht berechtigt, von „lebenden Molekülen“, von „Eiweißleben“ zu sprechen, das wäre ein Rückschritt zu den Zeiten von Haeckel und Verworn (Biogen-Hypothese). Die Euviren stellen kein Zwischen- und kein Bindeglied dar zwischen lebendem und leblosem Sein, eine Bedeutung für das Problem der Urzeugung kommt ihnen nicht zu. Eine ausgezeichnete Auswahl einschlägiger Literatur, von der vieles vielen Biologen fremd ist, ermöglicht es dem Leser dieser Schrift, die ihn fesselt und fasziniert, noch weiter in die aufgeworfenen Grundfragen einzudringen. In die Literaturliste könnte etwa auch Wiesners kleines Buch „Erschaffung, Entstehung, Entwicklung“ aufgenommen werden. F. Weber (Graz).

**Vasseur, E.: Demonstration of a jelly-splitting enzyme at the surface of the sea-urchin spermatozoon.** Expt. Cell Res. 2, 144—146 (1951).

Die Samenfäden vermögen enzymatisch den Gelmantel der Eier zu durchbrechen; sie benötigen nicht den in den Versuchen benutzten Oktylalkohol, durch welchen der agglutinierte Komplex von Wasser, Fertilizin und dem Gelmantel der Eier gelöst wird. H. H. Pfeiffer (Bremen).

**Virgin, Hemming I.: The effect of light on the protoplasmic viscosity.** Physiologia Plantarum 4, 255—357 (1951).

Diese eingehende und kritische Studie bringt wichtige neue Erkenntnisse über die Wirkung des Lichtes auf die Protoplasma-Viskosität. Versuchspflanze ist *Helodea densa*. Aus der Verlagerungsgeschwindigkeit des Zellinhaltes der Blätter bei gleichbleibender Zentrifugierung wird auf die Viskosität und ihre Änderungen unter dem Wechsel von inneren und äußeren Bedingungen geschlossen. Das, was unter Cytoplasma-Viskosität bei Anwendung der Zentrifugierungsmethode verstanden und gemessen wird, wird eingehend erörtert und gegenüber den Ergebnissen, die mit anderen Methoden (Plasmolyseform-Methode) bestimmt werden kann, unterschieden. Von den zahlreichen Ergebnissen seien nur einige herausgegriffen. Die Viskosität ist am niedersten in jungen Blättern; sie ist unter natürlichen Verhältnissen nachts höher als tagsüber. Wird vorher verdunkeltes Protoplasma weißem Licht ausgesetzt, so reagiert es darauf mit einer Änderung der Viskosität. Die Stärke der Reaktion ist abhängig von der Lichtintensität, aber auch von der Dauer der vorausgehenden Verdunklung. Auch die Vorbelichtung, der das Blatt vor der Verdunklung ausgesetzt war, ist nicht ohne Bedeutung. Je nach der Lichtintensität besteht die Reaktion in einer Abnahme oder in einer Zunahme der Viskosität. Wird das Protoplasma einem kurzen Lichtreiz ausgesetzt, so antwortet es darauf mit raschen Viskositätsschwankungen, die im Dunkeln ausklingen. Die Lichtwirkung auf das Protoplasma ist streng lokal, in einer teilweise abgedunkelten Zelle, ändert sich bei Belichtung die Viskosität nur in dem belichteten Teil, eine Reizleitung scheint nicht stattzufinden. Über weitere Ergebnisse sei auf die sehr wertvolle Arbeit verwiesen. F. Weber (Graz).

# PROTOPLASMA

UNTER BESONDERER MITWIRKUNG VON

**ROBERT CHAMBERS** UND **WILLIAM SEIFRIZ**  
NEW YORK PHILADELPHIA

HERAUSGEGEBEN VON

**JOSEF SPEK** UND **FRIEDL WEBER**  
ROSTOCK GRAZ

**XL. BAND**

**Autorenverzeichnis von Band XXXI—XL**



**WIEN**  
**SPRINGER-VERLAG**  
1951

PROTOPOLARMA

UNIVERSITY OF MICHIGAN LIBRARY

ANN ARBOR, MICHIGAN

1964

RECEIVED



1964

1964-1965

## Autorenverzeichnis

Titel der Arbeit	Band	Seite
<b>I. Abhandlungen</b>		
Abele, K.: Über die Volumenabnahme des Zellkernes in der Plasmolyse und über das Zustandekommen der Kernplasmarelation . . . . .	XL	324
Arens: Lokaler Nachweis von Kalzium in den Membranen des <i>Elodea</i> -Blattes mittels Natriumoleat . . . . .	XXXI	508
— Physiologische Multipolarität der Zelle von <i>Nitella</i> während der Photosynthese . . . . .	XXXIII	295
Badenhuizen, N. P.: Growth and corrosion of the starch grain in connection with our present knowledge of the microscopical and chemical organization . . . . .	XXXIII	440
Bancher, E.: Mikrochirurgische Studien an pflanzlichen Zellkernen nach UV-Bestrahlung . . . . .	XXXVI	607
Bank, O.: Abhängigkeit der Kernstruktur von der Ionenkonzentration . . . . .	XXXII	20
— und H. G. Bungenberg de Jong: Untersuchungen über Metachromasie . . . . .	XXXII	489
— und E. G. Hoskam: Ionenfolgen für die Aufhebung von Komplexsystemen . . . . .	XXXIV	188
Barg, T.: Methodisches zur Diatomeenuntersuchung . . . .	XXXVI	120
Bejdl, W.: Der Einfluß von Ultraschallwellen auf die Entwicklung von Froscheiern und auf die Zellteilung der Eier des Pferdespulwurms mit besonderer Berücksichtigung der Grenzflächenspannungen . . . . .	XXXIX	597
— Der Einfluß von Ultraschallwellen auf die Entwicklung von Froscheiern und auf die Zellteilung der Eier des Pferdespulwurms mit besonderer Berücksichtigung der Grenzflächenspannungen (II. Teil) . . . . .	XL	54
Beyrich, H.: Neue Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und Morphologie der Zystolithen . . . . .	XXXVIII	287
Biebl, R.: Zur Frage der Salzpermeabilität bei Braunalgen — Zellphysiologische Studien an <i>Antithamnium plumula</i> (Ell.) Thuret . . . . .	XXXI	518
— Weitere Untersuchungen über die Wirkung der $\alpha$ -Strahlen auf die Pflanzenzelle . . . . .	XXXII	443
— Wirkung der UV-Strahlung auf <i>Allium</i> -Zellen . . . . .	XXXV	187
— Wirkung der UV-Strahlen auf die Plasmapermeabilität . . . . .	XXXVI	491
— Vergleichende chemische Resistenzstudien an pflanzlichen Plasmen . . . . .	XXXVII	1
	XXXIX	1

Titel der Arbeit	Band	Seite
Biebl, R.: Über die Resistenz pflanzlicher Plasmen gegen Vanadium . . . . .	XXXIX	251
Blaess, H.: Bewegungen des systrophischen und intravakuolären Protoplasmas . . . . .	XXXVI	177
Boas, F., und R. Gistl: Über einige Colchicinwirkungen . .	XXXIII	301
Boerner-Patzelt, D.: Über ursächliche Faktoren der polychromen Fluoreszenz von Geweben und Gewebestrukturen nach Fluorochromierung mit nur einem Fluorochrom . . .	XXXIX	639
Brandt, K. M.: Physiologische Chemie und Cytologie der Preßhefe. (Ein Sammelbericht und neue Untersuchungen im ultravioletten Licht und am gefärbten Material) . . . .	XXXVI	77
Brondsted, H. V.: Formbildungsprozesse bei einem sehr primitiven Metazoon, dem Süßwasserschwamm <i>Spongilla lacustris</i> (L.) . . . . .	XXXVII	244
Bukatsch, F., und M. Haitinger: Beiträge zur fluoreszenzmikroskopischen Darstellung des Zellinhaltes, insbesondere des Cytoplasmas und des Zellkerns . . . . .	XXXIV	515
— Zur Bestimmung des Ascorbinsäuregehaltes in gerbstoffführenden Pflanzenteilen (mit besonderer Berücksichtigung der Insektivoren) . . . . .	XXXVI	571
Bungenberg de Jong, H. G., and J. L. L. F. Hartkamp: On the formation of hyaline vesicles at the surface of <i>Paramecium caudatum</i> . Contribution to the knowledge of the plasma membrane . . . . .	XXXI	550
— und O. Bank: Zur Morphologie von Komplexelektrolyten . . . . .	XXXIII	321
— — Mechanismen der Farbstoffaufnahme. I. Farbstoffspeicherung, elektrische Bindung, Ausschüttelung . . . . .	XXXIII	512
— — Mechanismus der Farbstoffaufnahme. II. Stoffspeicherung, elektrische Bindung, Ausschüttelung . . . . .	XXXIV	1
— und E. G. Hoskam: Morphologische Studien an Komplexkoazervaten. Flüssige bzw. gelatinisierte Schaum- und Hohlkörper . . . . .	XXXIV	30
Burrows, W.: Studies on the growth of <i>Chilomonas paramecium</i> in inorganic and acetate solutions . . . . .	XXXI	20
Caspersson, T., und K. Brandt: Nucleotidsatz und Wachstum bei Preßhefe . . . . .	XXXV	507
Caruso, C.: Passaggio della vitamina C negli inclusi lipidici e sedi insolite per la reazione di Giroud-Leblond . . . .	XXXI	98
— Nuove osservazioni sulla localizzazione di talune reazioni argentiche . . . . .	XXXI	489
— Leucolipidoplasti e cellule sebose in <i>Cephalocereus euphorbioides</i> . . . . .	XXXII	169
Castle, E. S.: Orientation of structure in the cell wall of <i>Phycomyces</i> . . . . .	XXXI	331
Ceruti, A.: Sulle strutture protoplasmatiche in rapporto ad alcune soluzioni . . . . .	XXXIX	79



Titel der Arbeit	Band	Seite
Cholnoky, B. J. v.: Protoplasmatische Untersuchungen an Fruchtfleischzellen von <i>Ligustrum vulgare</i> . . . . .	XXXVII	415
— und K. Höfler: Plasmolyse und Bewegungsvermögen der Diatomee <i>Amphiprora paludosa</i> . . . . .	XXXVIII	155
— Über farbstoffführende Zellen der <i>Nemesia-strumosa</i> -Blumenblätter . . . . .	XL	152
Ciaccio, G.: Ricerche sulle ghiandole salivari dei ditteri. I cromosomi giganti studiati con la microfotografia a raggi ultravioletti . . . . .	XXXVII	161
Collander, R., und E. Virtanen: Die Undurchlässigkeit pflanzlicher Protoplasten für Sulfosäurefarbstoffe . . . .	XXXI	499
— Permeabilitätsstudien an Characeen. III. Die Aufnahme und Abgabe von Kationen . . . . .	XXXIII	215
Coult, D. A.: Some observations on the effects of shaking on plants with particular reference to <i>Sinapis alba</i> L. . . . .	XXXII	92
Crafts, A. S.: The protoplasmic properties of sieve tubes . .	XXXIII	389
Dagys, J.: Über die gebundenen Hefewuchsstoffe . . . . .	XXXI	524
— und Ona Kaikaryte: Einfluß der Azidität auf Wachstum und Giftempfindlichkeit des Pilzes <i>Absidia orchidis</i> . . . . .	XXXVIII	127
Davis, G. E., and W. W. Lepeschkin: Hemolysis and the ultraviolet rays of the solar spectrum . . . . .	XXXI	207
Degkwitz jun., R.: Myelinfiguren und die bei ihrer Entstehung auftretenden Drucke . . . . .	XXXI	180
Diannelidis, T.: Plastiden-Rückverlagerung nach Zentrifugieren und Narkose . . . . .	XXXIX	244
— Zellphysiologische Beobachtungen an den Schließzellen von <i>Stratiotes aloides</i> . . . . .	XXXIX	441
Drawert, H.: Beiträge zur Vitalsfärbung pflanzlicher Zellen	XL	85
Duspiva, F.: Beiträge zur Histophysiologie des Insekten-darmes. I. Untersuchungen über die Verteilung der proteolytischen Enzyme sowie der Sekret- und Resorptionszellen im Darm von <i>Dytiscus marginalis</i> . . . . .	XXXII	211
Eibl, K.: Kontraktion der Chromatophoren bei <i>Micrasterias rotata</i> . . . . .	XXXII	251
— Das Verhalten der <i>Spirogyra</i> -Chloroplasten bei Zentrifugierung . . . . .	XXXIII	73
— Plasmolytische Untersuchungen an den Plastiden von <i>Spirogyra</i> . . . . .	XXXIII	161
— Studien über das Plasmolyseverhalten der Desmidiaceen-Chromatophoren . . . . .	XXXIII	531
— Lipophaneroze der Plastiden von <i>Spirogyra</i> durch K-Oleat und andere Seifen . . . . .	XXXIV	343
— Die Restitution der Chromatophorenform bei <i>Micrasterias rotata</i> nach Schleuderung . . . . .	XXXV	595
Eicke, R., und E. Köhler: Beobachtungen an den Eiweißkristallen der Kartoffelsorte „Juli“ . . . . .	XXXVIII	64

Titel der Arbeit	Band	Seite
Elo, J. E.: Zur Kenntnis der Permeabilitätseigenschaften von <i>Hippuris vulgaris</i> L. . . . .	XXXII	423
Ertl, O.: Über die Silbernitrat-Reduktion der Plastiden . . .	XXXIII	275
Etz, K.: Über die Wirkung des Austrocknens auf den Inhalt lebender Pflanzenzellen . . . . .	XXXIII	481
Freundenberger, H.: Die Reaktion der Schließzellen auf Kohlensäure und Sauerstoffentzug . . . . .	XXXV	15
Frey-Wyssling, A., und F. Blank: Über knieförmige Oxalatkristalle von <i>Caryocar nuciferum</i> L. . . . .	XXXI	194
— Optik gekreuzter Feinbausysteme und Zellwandstreckung	XXXV	527
— und R. Frey: Tunicin im Elektronenmikroskop . . . . .	XXXIX	656
Gavrilov, W., et M-ele S. Cowez: Explantations du „complexe“ de tissus de divers organes cultivés in vitro sur la même lamelle pendant une longue période et leur application aux recherches biologiques . . . . .	XXXIV	329
— Inclusions dans le cytoplasme d'épithélium de la cornea du lapin in vitro provoquées par des virus et autres agents biologiques, physiques et chimiques . . . . .	XXXIII	379
— Entdifferenzierung von Zellen in verschiedenen explantierten Geweben . . . . .	XXXV	321
Geitler, L.: Georg Tischler 60 Jahre alt . . . . .	XXXI	329
Germ, H.: Ein Fall spontaner Plasmasystopie . . . . .	XXXIX	483
Gersdorff, W. A.: Effect of the replacement of oxygen with sulphur in the cresol molecule on toxicity to goldfish . . . . .	XXXI	199
Gessner, F.: Die Assimilation der Hymenophyllaceen . . .	XXXIV	102
— Untersuchungen über die Osmoregulation der Wasserpflanzen . . . . .	XXXIV	593
Härtel, O.: Physiologische Studien an Hymenophyllaceen. I. Zellphysiologische Untersuchungen . . . . .	XXXIV	117
— Physiologische Studien an Hymenophyllaceen. II. Wasserhaushalt und Resistenz . . . . .	XXXIV	489
— Quellungsstudien an Pflanzen verschiedener Höhenstufen . . . . .	XXXVII	350
— Wirkungen von Ionen auf die Wasserdurchlässigkeit des primären und sekundären Hautgewebes pflanzlicher Organe . . . . .	XXXIX	364
— G. Kenda und F. Weber: Myelin-Figuren aus Drüsenhaaren von <i>Verbascum Blattaria</i> . . . . .	XXXIX	619
— — Plasmal-Idioblasten im Mesophyll von <i>Verbascum Blattaria</i> . . . . .	XXXIX	629
— Ionenwirkung auf die Kutikulartranspiration von Blättern	XL	107
— Gerbstoffe als Ursache „voller“ Zellsäfte . . . . .	XL	338
— Die Stachelkugeln von <i>Nitella</i> . . . . .	XL	526
Hamdallah, Abul Wafa: Vitamin-C-Gehalt eisen- bzw. magnesiumfrei gezogener Pflanzen . . . . .	XXXII	31
Hasama, Bun-Ichi: Potentialschwankungen am Leuchtorgan des Glühwurms . . . . .	XXXIII	103

Titel der Arbeit	Band	Seite
Heilbrunn, L. V., und W. L. Wilson: The Prevention of Cell Division by Anti-Clotting Agents . . . . .	XXXIX	389
Herøik, F.: Über morphologische Veränderungen in <i>Allium</i> -Zellen nach $\alpha$ -Bestrahlung . . . . .	XXXI	228
— Die fluoreszenzmikroskopische Analyse der $\alpha$ -Strahlenwirkung . . . . .	XXXII	527
Hermann, J. von, und B. Bugyi: Röntgenfeinstrukturuntersuchungen an Fibrinfasern und Gitterfasern und ihre Beziehungen zueinander bei der Wundheilung . . . . .	XXXII	199
Hirsch, G. C.: Vitamin C und Golgi-Körper. Bemerkungen zur vorstehenden Arbeit von O. Järvi . . . . .	XXXIV	377
— Der intraplasmatische Stoffwechsel in den Darmzellen von <i>Ascaris lumbricoides</i> . Teil III: Der Formwechsel der Golgi-Körper . . . . .	XXXV	280
Hirschler, J.: Zur Frage nach der Beziehung des Golgi-Apparates zu der rubrophilen Substanz (Vacuom), zugleich ein Beitrag zur Physiologie der indirekten Zellteilung . . . . .	XXXVII	213
Höfler, K., und H. Weixl-Hofmann: Salzpermeabilität und Salzresistenz der Zellen von <i>Suaeda maritima</i> . . . . .	XXXII	416
— Kappenplasmolyse und Ionenantagonismus . . . . .	XXXIII	545
— Über Fettspeicherung und Zuckerpermeabilität einiger Diatomeen und über Diagonal-Symmetrie im Diatomeenprotoplasten . . . . .	XXXVIII	71
— Ernst Küster. Zu seinem 75. Geburtstag am 28. Juni 1949 . . . . .	XXXIX	23
— A. Toth und M. Luhan: Beruht die Fluorochromfärbung von Zellkernen auf Elektroadsorption an der Eiweißphase? . . . . .	XXXIX	62
— und H. Schindler: Vitalfärbung von Algenzellen mit Toluidinblaulösungen gestufter Wasserstoffionenkonzentration . . . . .	XL	137
— Plasmolyse mit Natriumkarbonat . . . . .	XL	426
Höfler, R.: Silbernitrat-Reduktion der Schließzellen und Öffnungszustand der Stomata . . . . .	XXXIII	258
Hofmeister, L.: Die Wasserpermeabilität der Zellen des Drüsenepithems von <i>Saxifraga</i> . . . . .	XXXIII	399
— Mikrurgische Studien an Borraginoideen-Zellen. I. Mikrodisektion . . . . .	XXXV	65
— Mikrurgische Studien an Borraginoideen-Zellen. II. Mikroinjektion und mikrochemische Untersuchung . . . . .	XXXV	161
— Eine einfache Apparatur für quantitative Mikroinjektion, nebst Bemerkungen über plasmatische Injektion . . . . .	XXXIX	323
Houska, H.: Beiträge zur Kenntnis der Kappenplasmolyse. Zur Ätiologie und protoplasmatischen Anatomie der Kappenplasmolyse bei <i>Allium cepa</i> . . . . .	XXXVI	11
Huber, B., und O. Stocker: Helmut Schmidt † . . . . .	XXXVI	473
— Zur Theorie der spezifischen Permeabilitätsreihen . . . . .	XXXVII	439

Titel der Arbeit	Band	Seite
Järvi, O.: Die Beziehungen zwischen dem Vitamin C und der Golgi-Substanz im exokrinen Gewebe des Pankreas und in den Speicheldrüsen der Katze . . . . .	XXXIV	362
— Entgegnung auf die Bemerkungen von G. C. Hirsch über meine Arbeit: Die Beziehungen zwischen dem Vitamin C und der Golgi-Substanz im exokrinen Gewebe des Pankreas und in den Speicheldrüsen der Katze . . . . .	XXXV	274
Janssen, I. W.: Biosynthesis and the outlines of protein structures . . . . .	XXXIII	410
Jensen, A. B.: Studien über die Kälteresistenz von Pflanzenzellen . . . . .	XXXVI	195
Johannes, H.: Beiträge zur Vitalfärbung von Pilzmyzelien II. Die Inturbanz der Färbungen mit Rhodaminen	XXXVI	181
Kaiserlehner, E.: Über Kappenplasmolyse und Entmischungsvorgänge im Kappenplasma. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Salzneurose des Cytoplasmas . . .	XXXIII	579
Kamiya, N.: Zytomorphologische Plasmolysestudien an <i>Allium</i> -Epidermen . . . . .	XXXII	373
— Beiträge zur Pathologie der Zellteilung und Querwandbildung . . . . .	XXXIII	427
— The Protoplasmic Flow in the Myxomycete. Plasmodium as Revealed by a Volumetric Analysis . . . . .	XXXIX	344
Keller, R.: Zur Elektrophysiologie von Drüsenprotoplasma — and B. Chiego: Vital Staining of Developing Eggs . .	XXXIX	176
Kelly, J.: The Localization of a Metachromatic Substance in the <i>Chaetopterus</i> Egg . . . . .	XXXIX	44
Kenda, G., I. Thaler und F. Weber: Kern-Kristalloide in Stomata-Zellen? . . . . .	XL	386
Kropfisch, M.: Apfelfas-Wirkung auf Stomatazahl . . .	XL	624
— UV-Bestrahlung und Stomatazahl . . . . .	XL	256
— Spaltöffnungszahl und Heteroauxin . . . . .	XL	266
Küster, E.: Über Plasmolyse- und Deplasmolyseformen pflanzlicher Protoplasten . . . . .	XXXVI	461
— Beiträge zur Cytogenese des <i>Basidiobolus</i> . . . . .	XXXVI	134
— Mitteilungen über <i>Porphyra</i> . Beiträge zur pathologischen Cytogenese der Meeresalgen . . . . .	XXXVII	169
— Über zelluloseprotoplasma degeneration in Pilzwirtszellen	XXXVIII	321
— Über Vakuolenkontraktion in gezeigten Zellen . . . .	XXXIX	13
Kühl, W.: Mikrodynamische Untersuchungen an <i>Actinosphaerium eichhorni</i> Ehrbg. . . . .	XL	14
Lanz, I.: Neue Beiträge zur Kenntnis der Systrophe des Protoplasmas . . . . .	XXXVI	555
— Rhythmische Ablagerungen in lebendigen Pflanzenzellen .	XXXVII	381
Lasnitzki, A., and M. Lasnitzki: The differentiation by the animal body of potassium originating from two sources	XXXI	337
		351

Titel der Arbeit	Band	Seite
Lepeschkin, W. W.: Untersuchungen über thermo- und photochemische Prozesse beim Absterben der Zellen. V. Todes- und Beschädigungswärme des Muskelgewebes . . .	XXXI	221
— Untersuchungen über thermo- und photochemische Erscheinungen beim Absterben der Zellen. VI. Einfluß der Austrocknung und des Lichts auf den Vitaidstoffwechsel der Hefe . . . . .	XXXI	357
— Über Fluid-Eigenschaften des Protoplasmas . . . . .	XXXIII	1
— Ultrarote Strahlen im Dienste der Erforschung des molekularen Baues des Protoplasmas. I. Gesamtstreuung und Plotnikow-Effekt in lebenden und toten Zellen und Geweben . . . . .	XXXIII	50
— Einfluß des Lichts auf Exosmose und Speicherung von Salzen im Kartoffelknollengewebe . . . . .	XXXIV	55
— Ultrarote Strahlen im Dienste der Erforschung des molekularen Baues des Protoplasmas. II. Veränderung der Vitaidmoleküle im Stoffwechsel und bei der Einwirkung verschiedener Substanzen . . . . .	XXXIV	161
— Beeinflussung der Giftresistenz der Hefezellen durch Strahlen des Sonnenspektrums . . . . .	XXXIV	353
— Ultrarote Strahlen im Dienste der Erforschung des molekularen Baues des Protoplasmas. III. Anteil des Tyndall- und Plotnikow-Effekts an der Streuung lebender und toter Zellen und Schätzung des Molekulargewichts der Vitaide . . .	XXXV	95
— Über die Resistenz des Protoplasmas der Echinodermen-Eier gegen mechanische Eingriffe, seine Fluoideigenschaften und die sogenannte Surface precipitation reaction . . . . .	XXXV	364
— Untersuchungen über thermo- und photochemische Prozesse beim Absterben der Zellen. VII. Kalorimetrischer Vergleich lebender Zellen und Gewebe mit dem zellarmen Bindegewebe . . . . .	XXXV	390
— Vitalfärbung der Echinodermen-Eier und selektive Permeabilität der Protoplasmaoberfläche . . . . .	XXXV	588
— Ultrarote Strahlen im Dienste der Erforschung des molekularen Baues des Protoplasmas. IV. Molekulargewicht der Vitaide . . . . .	XXXVI	52
— Ultrarote Strahlen im Dienste der Erforschung des molekularen Baues des Protoplasmas. V. Veränderung des Molekulargewichts der Vitaide unter dem Einfluß des Wassergehalts des Protoplasmas und dem des Lichts . . . . .	XXXVI	414
— Ultrarote Strahlen im Dienste der Erforschung des molekularen Baues des Protoplasmas. VI. Anteil des Tyndall- und Plotnikow-Effekts an der Streuung der Gewebe und Schätzung des Molekulargewichts ihrer Vitaide . . . . .	XXXVII	25
— Zur Kenntnis des Absterbens der Hefe beim Austrocknen . . . . .	XXXVII	404
— Einfluß der Temperatur und des Lichtes auf Exosmose und Speicherung von Salzen in Laubblättern . . . . .	XXXVIII	275



Titel der Arbeit	Band	Seite
Lepeschkin, W. W.: Über die Struktur und den molekularen Bau der lebenden Materie . . . . .	XXXIX	222
Lepow, S. S.: Some reactions of slime mould protoplasm to certain alkaloids and snake venoms . . . . .	XXXI	161
Lherisson, C.: De la valeur relative des coefficients thermiques en biologie . . . . .	XXXI	535
Lindahl, Per Eric: Einige Bemerkungen zu der Arbeit „Lithium und echinoderm exogastrulation“ von C.M. Child . . . . .	XXXVI	558
Lindner, E.: Zellphysiologische Resistenzuntersuchungen an Ruderal-, Wiesen- und Kulturpflanzen . . . . .	XXXIX	507
Linser, H.: Die zellstreckende Wirkung einiger Phenoxysäurederivate im Pastentest . . . . .	XXXIX	358
Lipp, W.: Versuch einer physiko-chemischen Analyse der Silberimprägnationsmethode nach Bielschowsky-Gros . . . . .	XL	275
Lundegardh, H.: Untersuchungen über das chemisch-physikalische Verhalten der Oberfläche lebender Zellen . . . . .	XXXV	548
Macht, D. I.: Phytopharmacological reactions of extracts from textile fibers . . . . .	XXXIII	341
Mairold, F.: Studien an colchicinierten Pflanzen . . . . .	XXXVII	445
Menke, W.: Untersuchungen über den Feinbau des Protoplasmas mit dem Universal-Elektronenmikroskop . . . . .	XXXV	115
Milovidov, P.: Bibliographie der Nucleal- und Plasmal-reaction . . . . .	XXXI	246
Mirimanoff, A.: Remarques sur la secretion des tentacules de <i>Drosera</i> . Notes histochimiques . . . . .	XXXIII	211
Mommaerts, W. F. H. M.: Der Ascorbinsäure-Gehalt von Embryonalextrakten verschiedenen Alters . . . . .	XXXVI	204
— Über den Embryonalextrakt der Gewebezüchtung und seine Stickstoffreaktionen . . . . .	XXXVI	209
Monné, L.: Polarisationsoptische Untersuchungen über den Golgi-Apparat und die Mitochondrien männlicher Geschlechtszellen einiger Pulmonaten-Arten . . . . .	XXXII	184
— Polarisationsoptische Untersuchungen über die Kernmembran . . . . .	XXXIII	18
— Über Farben und Farbenveränderungen lebender Zellen im Dunkelfeld . . . . .	XXXVI	222
Mückschitz, G.: Zur zellphysiologischen Analyse der Blütenbewegungen . . . . .	XL	348
Neubauer, M.: Das Vitamin C in der Pflanze . . . . .	XXXIII	345
Northern, H. T.: Studies of protoplasmic structure in <i>Spirogyra</i> . I. Elasticity . . . . .	XXXI	1
— and R. T. Northern: Studies of protoplasmic structure in <i>Spirogyra</i> . II. Alterations of protoplasmic elasticity . . . . .	XXXI	9
Örström, Ake, und M. Örström: Über die Bindung von Kalzium in Ei und Larve von <i>Paracentrotus lividus</i> . . . . .	XXXVI	475
Osoe, B.: Eine experimentell erzeugte reversible Teilungsumkehr bei <i>Actinosphaerium Eichhorni</i> (Ehrenberg) . . . . .	XXXVI	1

Titel der Arbeit	Band	Seite
Palva, P.: Die Wasserpermeabilität der Zellen von <i>Toly-pellopsis stelligera</i> . . . . .	XXXII	265
Pavulans, J.: Über die Nuclealreaktion in Embryosäcken und Pollenkörnern einiger Angiospermen . . . . .	XXXIV	22
Pekarek, J.: Absolute Viskositätsmessungen mit Hilfe der Brownschen Molekularbewegung. IX. Mitteilung: Die Viskosität des Protoplasmas bei Kappenplasmolyse . . . . .	XXXIV	177
Perner, E. S.: Die intravitale Aufnahme und Speicherung sulfosaurer Fluorochrome durch die obere Zwiebel-schuppenepidermis von <i>Allium Cepa</i> . . . . .	XXXIX	180
— Die intravitale Fluorochromierung junger Blätter von <i>Helodea densa</i> . (Ein Beitrag zur weiteren Aufklärung der entwicklungsphysiologisch bedingten Färbegradienten) . . . . .	XXXIX	400
Peteler, K.: Amöboide Formveränderungen der Diatomeen-Plastiden . . . . .	XXXII	9
Pfeiffer, H. H.: Rheologische, polarisationsoptische und beugungspolarisatorische Untersuchungen an Protoplasmatropfen und einigen Modellsubstanzen . . . . .	XXXIV	347
— Von Kontraktilität pflanzlichen Protoplasmas und Vorversuchen zu ihrer quantitativen Erfassung . . . . .	XXXV	265
— Verzeichnis von Untersuchungen an Speicheldrüsenchromosomen. Eine vorläufige Bibliographie . . . . .	XXXV	618
— Dehnungsmoduln und Doppelbrechung mechanisch beanspruchter Chromatinfäden . . . . .	XXXVII	273
— Eine Methode zur Bestimmung der Lichtbrechung von Protoplasma ohne Störung seines Vitalzustandes . . . . .	XXXIX	37
— Untersuchungen an Lipoidtropfen in Explantaten in vitro . . . . .	XL	48
— Eine neue Mikromethode zur Bestimmung der Lichtbrechung von Protoplasmatropfen . . . . .	XL	502
Pfeiffer, R.: Ca-Mangel und Vitamin-C-Gehalt von <i>Vicia Faba</i> -Keimlingen . . . . .	XXXV	398
Pfenniger, L., und A. Frey-Wyssling: Über die Wegsamkeit des Intermicellarsystems sekundärer Zellwände . . . . .	XXXIII	371
Pisek, A.: Frosthärte und Zusammensetzung des Zellsaftes bei <i>Rhododendron ferrugineum</i> , <i>Pinus cembra</i> und <i>Picea excelsa</i> . . . . .	XXXIX	129
Plass, H.: Zur Pathologie der Diatomeenplastiden. I. Erscheinungen der natürlichen Degeneration . . . . .	XXXVI	345
— Zur Pathologie der Diatomeenplastiden. II. Aufquellung durch Ammoniak . . . . .	XXXVII	189
Rella, M.: Vitalfärbungsuntersuchungen an Süßwasserhydrozoen . . . . .	XXXV	298
Reuter, L.: Über die Salzresistenz der Epidermiszellen des Blattes von <i>Pisum sativum</i> . Ein Beitrag zur protoplasmatischen Anatomie . . . . .	XXXV	330

Titel der Arbeit	Band	Seite
Reuter, L.: Beobachtungen an den Spaltöffnungen von <i>Polypodium vulgare</i> in verschiedenen Entwicklungsstadien. Ein Beitrag zur protoplasmatischen Anatomie . . . . .	XXXVI	321
— Die Harnstoffpermeabilität der Schließzellen. Versuch eines quantitativen Nachweises der Permeabilität der Schließzellen . . . . .	XXXVII	538
Riehl, N., Rompe, R., Timoféeff-R-Ressovsky, N. W., und K. G. Zimmer: Über Energiewanderungsvorgänge und ihre Bedeutung für einige biologische Prozesse . . . .	XXXVIII	105
Rieser, P., The Protoplasmic Viscosity of Muscle . . . . .	XXXIX	95
Roelofsen, P. A., and A. L. Houwink: Cell Wall Structure of Staminal Hairs of <i>Tradescantia virginica</i> and its Relation with Growth . . . . .	XL	1
Runnström, J.: Über den Einfluß von Kupfer auf die Entwicklungserregung des Eies von <i>Arbacia</i> , nebst Bemerkungen über das Problem der Entwicklungserregung . . . .	XXXII	366
Savelli, R., e C. Caruso: La reazione di Maassen nei tessuti dei vegetali superiori . . . . .	XXXI	234
— — Osservazioni sulla birifrangenza dei plastidi . . . . .	XXXII	1
— — Ulteriori ricerche su taluni processi riduttivi in rapporto con la localizzazione e l'azione della vitamina C nei tessuti . . . . .	XXXII	397
— — Precipitazioni periodiche nei tessuti vegetali . . . . .	XXXII	517
Scheminzyk, F.: Zur „Physiologie“ der Traubeschen Ferrozankupferzelle . . . . .	XXXI	69
— Wirkungen des Gasteiner Thermalwassers auf Entwicklung und Altern der Ferrozankupferzelle . . . . .	XXXI	136
Schindler, H.: Protoplasmatod durch Schwermetallsalze. I. Kupfersalze . . . . .	XXXVIII	225
— Protoplasmatod durch Schwermetallsalze. II. Kobalt- und Nickelsalze . . . . .	XXXVIII	245
Schmach, W.: Salz- und osmotische Wirkung auf den Vitamin-C-Gehalt von Keimlingen . . . . .	XXXV	342
Schmidt, H. H.: Studien zur experimentellen Pathologie der Chloroplasten . . . . .	XL	209
— Studien zur experimentellen Pathologie der Chloroplasten . . . . .	XL	507
Schmidt, W. J.: Neuere polarisationsoptische Arbeiten auf dem Gebiete der Biologie. II. Bericht . . . . .	XXXIV	237
— Die Doppelbrechung des Stieles von <i>Carchesium</i> , insbesondere die optisch-negative Schwankung seines Myonems bei der Kontraktion . . . . .	XXXV	1
— Beiträge zur Kenntnis des Gold- und Silberdichroismus . . . . .	XXXV	55
— Polarisationsmikroskopische Beobachtungen an <i>Amoeba proteus</i> . . . . .	XXXVI	370
Schmidt, H.: Plasmazustand und Wasserhaushalt bei <i>Lamium maculatum</i> . . . . .	XXXIII	25

Titel der Arbeit	Band	Seite
Schmidt, W. J.: Über Doppelbrechung und Feinbau der Kernmembran . . . . .	XXXII	193
— Über die Doppelbrechung des Amöbenplasmas . . . . .	XXXIII	44
Schopfer, W. H.: La pyrimidine (2-méthyl-4-amino-méthyl-pyrimidine), facteur de croissance de microorganismes ( <i>Rhodotorula</i> , Mucorinées, <i>Dematium</i> ) . . . . .	XXXI	105
— et S. Blumer: Le pouvoir de synthèse d'un facteur de croissance par <i>Schizophyllum commune</i> (haplontes et diplonte) . . . . .	XXXIV	524
— Le thiodrome colorant vital fluorescent. Son rôle comme indicateur cytologique de la perméation de l'acide ascorbique . . . . .	XXXVI	546
Schorr, L.: Beobachtungen an isoliertem Cyanophyccen-Protoplasma . . . . .	XXXI	540
Seemann, F.: Zur $c_H$ -Abhängigkeit der Wasserpermeabilität des Protoplasmas . . . . .	XXXIX	147
— Der Einfluß der Wärme und UV-Bestrahlung auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas . . . . .	XXXIX	535
Seifrizz, W.: The symmetrical distribution of protoplasmic particles in an electric field . . . . .	XXXII	536
— Pathological changes in protoplasm . . . . .	XXXII	538
— und H. L. Pollack: Eine Theorie über den Mechanismus der Erregung . . . . .	XXXIX	55
— A Molecular Interpretation of Toxicity . . . . .	XL	313
Sluiter, J. W.: Die Cytologie des Hühnereies während der ersten Phase der Ovogenese. Teil I: Die extrafollikuläre Periode . . . . .	XXXIV	393
— Die Cytologie des Hühnereies während der ersten Phasen der Ovogenese. Teil II: Die intrafollikuläre Periode . . . . .	XXXIV	431
Small, J., and K. M. Maxwell: $p_H$ phenomena in relation to stomatal opening. I. <i>Coffea arabica</i> and some other species . . . . .	XXXII	272
Soltys, A., K. Umrath und C. Umrath: Über Erregungssubstanz, Wuchsstoff und Wachstum . . . . .	XXXI	454
Spek, J.: Metachromasie und Vitalfärbung mit $p_H$ -Indikatoren . . . . .	XXXIV	533
— Eine optische Methode zum Nachweis von Lipoiden in der lebenden Zelle . . . . .	XXXVII	49
— und G. Gillissen: Die Zellmembran der Amöben — eine chromotrope Substanz . . . . .	XXXVII	258
— Otto Bütschli (1848—1920). Zum Hundertsten Geburtstag . . . . .	XXXIX	99
— Über das optische Verhalten von Safraninen und Aposafraninen in den verschiedenen Komponenten des Protoplasmas . . . . .	XL	239
Stiegler, A.: Vitalfärbungen an Pflanzenzellen mit Cresylechtviolett . . . . .	XXXIX	493
Stöger, E. M.: Zur Permeabilität der Schließzellen . . . . .	XXXIX	588

Titel der Arbeit	Band	Seite
Strugger, S.: Neues über die Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot . . . . .	XXXIV	601
— Aufnahme und Speicherung des Auramins durch lebende Pflanzenzellen . . . . .	XXXVII	429
Suter, H.: Über die Eignung der Schlierenmethode zur Messung osmotischer Zustandsgrößen . . . . .	XXXI	421
Tasaki, I., and N. Kamiya: Electrical Response of a Slime Mold to Mechanical and Electrical Stimuli . . . . .	XXXIX	333
Terry, R. L.: The Surface Precipitation Reaction in the Ovarian Frog Egg . . . . .	XXXIX	206
Thielke, G.: Sekundäre Membranverwachsungen im Bereich der Spaltöffnungen am Blütenstengel von <i>Narcissus poeticus</i> L. . . . .	XL	639
Thummler, R.: Einige Beiträge zur physiologischen Analyse der Rauchsäden . . . . .	XXXVI	254
Tiel, N. van: Der intraplasmatische Stoffwechsel in den Darmzellen von <i>Ascaris lumbricoides</i> . Teil IV: Die Adsorption von Metallen an Golgi-Körpern . . . . .	XXXV	289
Törnävä, S. R.: Expansion-capacity of naked plant protoplasts . . . . .	XXXII	329
Troll, W.: Die protoplasmatische Organisation . . . . .	XL	541
Umrath, K.: Über das elektrische Potential und über Aktionsströme von <i>Valonia macrophysa</i> . . . . .	XXXI	184
— Über Pilz-Wuchsstoffe mit spezifischer Wirkung . . . . .	XXXIII	13
— Über die Art der elektrischen Polarisierbarkeit und der elektrischen Erregbarkeit bei <i>Nitella</i> . . . . .	XXXIV	469
— Über die Ausbreitung der durch Verwundung bedingten Viskositätsverminderung bei <i>Spirogyra</i> . . . . .	XXXVI	410
— Zur Theorie der Polarisation an lebenden Zellen . . . . .	XXXVI	584
— und F. Weber: Elektrische Potentiale an durch Coldicin oder Heteroauxin hervorgerufenen Keulenwurzeln . . . . .	XXXVII	522
— Über die Erregungssubstanz von <i>Berberis</i> . . . . .	XXXVII	346
— Über die Natur der elektrischen Potentialdifferenzen an pflanzlichen Geweben . . . . .	XXXVII	398
— Die elektrische Polarisierbarkeit von <i>Nitella</i> unter verschiedenen Bedingungen . . . . .	XXXVIII	1
Url, W.: Permeabilitätsverteilung in den Zellen des Stengels von <i>Taraxacum officinale</i> und anderer krautiger Pflanzen . . . . .	XL	47
Ursprung, A.: Über den Einfluß von Temperaturdifferenzen auf die Osmose . . . . .	XXXIII	200
Vaihinger, K.: Die Bewegungsmechanik der Spaltöffnungen . . . . .	XXXVI	430
Valkanov, A.: Über die osmiophile Substanz der Characeen . . . . .	XXXVI	247
Weber, F.: Sumner Cushing Brooks in memoriam . . . . .	XXXIX	103
— und G. Kenda: Notizen über Nymphaeaceen-Stomata . . . . .	XL	158



Titel der Arbeit	Band	Seite
Weier, E.: Viability of cells containing chloroplasts with an optical homogenous or granular structure . . . . .	XXXI	346
Weismann, O.: Eine theoretische und experimentelle Kritik der „bound water-Theorie“ . . . . .	XXXI	27
Weissenböck, K.: Membranregeneration plasmolysierter <i>Vaucheria</i> -Protoplasten . . . . .	XXXII	44
— und M.: Vitamin-C-Gehalt im Licht CO <sub>2</sub> -frei gezogener Pflanzen . . . . .	XXXIV	585
Wergin, W.: Über den Aufbau pflanzlicher Zellwände. V. Mitteilung: Untersuchung über die Baueinheiten mit Hilfe der Quellungsanalyse . . . . .	XXXII	116
White, T.: The toxicity of copper nitrate solutions to <i>Polycelis nigra</i> . Part. I. The toxicity — concentration relationship . . . . .	XXXII	289
Wieler, A.: Die Sphäritnatur der Stärkekörner und einiger anorganischer Verbindungen . . . . .	XXXI	370
— Über die wabige Struktur des Cystolithenskelettes und über aktives Flächenwachstum . . . . .	XXXIV	70
— Die Bedeutung der Innenhaut für die Zelle und die Struktur der sekundären Verdickungsschichten . . . . .	XXXIV	202
— Über Schleimendosperme, Schleimzellen und Schleimepidermen . . . . .	XXXV	481
— Appositions- oder Intussuszeptionswachstum? . . . . .	XXXVII	171
— Der feinere Bau der Aleuronkörner und ihre Entstehung . . . . .	XXXVIII	21
Wiesner, G.: Untersuchung über Vitalfärbung von <i>Allium</i> -Zellen mit basischen Hellfeldfarbstoffen . . . . .	XL	405
Wilson, W. L.: The effect of Roentgen Rays on Protoplasmic Viscosity Changes During Mitosis . . . . .	XXXIX	305
Wittmann, H.: Untersuchungen zur Dynamik einiger Lebensvorgänge von <i>Amoeba sphaeronucleosus</i> (Greeff) bei natürlichem „Zeitmoment“ und unter Zeitraffung . . . . .	XXXIX	450
— Untersuchungen zur Dynamik einiger Lebensvorgänge von <i>Amoeba sphaeronucleosus</i> (Greeff) bei natürlichem „Zeitmoment“ und unter Zeitraffung (II. Teil) . . . . .	XL	23
Zeiger, K., H. Harders und W. Müller: Der Strugger-Effekt an der Nervenzelle . . . . .	XL	76
Ziegenspeck, H.: Die Differenzierungserscheinung der Einzelzelle, studiert an Algen und Haaren im Lichte der Mizellehre . . . . .	XXXII	342
— Dichroskopie und Metachroskopie. Der Dichroismus und Metachroismus besonders substantiv gefärbter natürlicher Pflanzenmembranen als ein Hilfsmittel zum Erforschen der physikalisch-chemischen Beschaffenheit derselben . . . . .	XXXV	237
— Beziehungen zwischen Lage und Teilungsfigur der Kerne und des Protoplasmas einerseits und Wandmicellierung andererseits. Dargestellt an Rippenmeristemen und Spaltöffnungsapparaten . . . . .	XXXVI	514

Titel der Arbeit	Band	Seite
Ziegenspeck, H.: Die Entwicklungsgeschichte der Spaltöffnungen einiger Monokotylen im Lichte der Micellierung und physikalisch-chemischen Beschaffenheit der Wände . . . . .	XXXVII	367
— Vergleichende Untersuchung der Entwicklung der Spaltöffnungen von Monokotyledonen und Dikotyledonen im Lichte der Polariskopie und Dichroskopie . . . . .	XXXVIII	197
<b>II. Sammelreferate</b>		
D'Amato, F.: The Quantitative Study of Mitotic Poisons by the <i>Allium Cepa</i> Test: Data and Problems . . . . .	XXXIX	423
Bank, O.: Der Zellkern als Komplexkoazervat . . . . .	XXXV	419
Dittmar, C.: Neuere Untersuchungen über karzinogene Substanzen . . . . .	XXXII	598
Fischer, H.: Über protoplasmatische Veränderungen beim Altern von Pflanzenzellen . . . . .	XXXIX	661
Höfler, K.: New Facts on Water Permeability . . . . .	XXXIX	677
Jordan, P.: Strahlenbiologie der Bakterien. Experiment und Theorie . . . . .	XXXII	464
Kisser, J.: Fixierung und Konservierung der natürlichen Pflanzenfarben . . . . .	XXXIV	610
Kopetzky-Rechtperg, O.: Zellbau und Zelleinschlüsse bei Conjugaten, besonders Desmidiales . . . . .	XXXIX	106
Lepeschkin, W. W.: Zellenresistenz und molekularer Protoplasmabau . . . . .	XXXVIII	184
Lison, L., et J. Fautrez: L'étude physicochimique des colorants dans ses applications biologiques. — Etude critique . . . . .	XXXIII	116
Lustig, B., und H. Wachtel: Der Stoffwechsel der bösartigen Geschwülste . . . . .	XXXII	556
Meeuse, A. D. J.: On the nature of plasmodesmata . . . . .	XXXV	143
Michaelis, P.: Grundzüge der intraindividuellen Plasmon-Umkombination . . . . .	XXXIX	260
Ries, E.: Über die Differenzierung der Eizelle. (Eine Auseinandersetzung mit J. Spek) . . . . .	XXXIII	602
Schmidt, W. J.: Neuere polarisationsoptische Arbeiten auf dem Gebiete der Biologie . . . . .	XXXVII	86
Spek, J.: Bemerkungen zu einigen neuen Publikationen über die Differenzierung der Eizelle . . . . .	XXXI	612
— Ein Schlußwort zu dem vorstehenden Artikel von E. Ries: Über die Differenzierung der Eizelle. (Mit besonderer Berücksichtigung des Metachromasie-Problems) . . . . .	XXXIII	608
Tonutti, E.: Ergebnisse histochemischer Vitamin-C-Untersuchungen . . . . .	XXXI	151
Treiber, E.: Der übermolekulare Aufbau der Cellulose (I. Teil) . . . . .	XL	166
— Der übermolekulare Aufbau der Cellulose . . . . .	XL	367

Titel der Arbeit	Band	Seite
Ullrich, H.: Biologische Kältewirkungen und plasmatische Frostresistenz (unter besonderer Berücksichtigung der Pflanzen) . . . . .	XXXVIII	165
Weier, E.: The microscopic appearance of the chloroplast . .	XXXII	145
<b>III. Kurze Mitteilungen</b>		
Bancher, E.: Mikrochirurgische Kernstudien . . . . .	XXXI	301
— Mikurgische Studien an <i>Delphinium</i> -Anthozyanophoren . .	XL	194
Barg, T.: Über die Indifferenzstreifen der Characeen . . . .	XXXVII	293
Biebl, R.: Beobachtungen über UV-Strahlenresistenz antho- kylanhaltiger Zwiebelepidermiszellen . . . . .	XXXVII	566
Brat, L., G. Kenda und F. Weber: Rhabdoide fehlen den Schließzellen von <i>Drosera</i> . . . . .	XL	633
Buchthal, F., und T. Petersi: Bemerkung zu der Arbeit von Karl Umrath „Über das elektrische Potential und über Aktionsströme von <i>Valonia macrophysa</i> “ . . . . .	XXXII	298
Bukatsch, F.: Der Ascorbinsäuregehalt von Laub- und Blumenkronblättern einiger Liliifloren . . . . .	XXXVII	287
Caruso, C.: Sul grado di specificità della reazione di Giroud- Leblond per la ricerca istochimica della vitamina C . . . .	XXXI	285
— Su taluni caratteri fisici e microchimici degli eleosomi di <i>Haemanthus coccineus</i> L. . . . .	XXXI	593
— Aggregati lipidici di origine plastidica in alcune cactacee .	XXXII	551
— Osservazioni su taluni lipidoplasti . . . . .	XXXIII	110
Drawert, H.: Das Sulfonamid Prontosil solubile als Vital- farbstoff . . . . .	XXXIX	688
— und C. Thilke: Protoplasmatische Studien an <i>Erineum nervisequum</i> Kunze auf <i>Fagus silvatica</i> L. . . . .	XL	200
Fürlinger, H.: Harnstoffpermeabilität der Epidermis etio- lierter und ergrünender Blätter . . . . .	XXXI	277
Höfler, K.: Einige Beobachtungen an <i>Closterium Dianae</i> und <i>Pleurotaenium nodulosum</i> . . . . .	XXXVII	283
Hütter-Kanert, M.: Über die Tüpfel von <i>Ceramium</i> . .	XL	397
Hygen, G.: Über die Nucleolen der großzelligen Desmi- diaceen . . . . .	XXXIII	479
Kellermann, H., F. Maiold und F. Weber: Vitamin-C- Gehalt der <i>Verbascum</i> -Futterhaare . . . . .	XXXVIII	316
Kopetzky-Rechtperg, O.: Bemerkungen zu den Anga- ben V. Czurdas über den Zellinhalt der Desmidiales . . .	XXXI	588
— Mitteilung über eine Protoplasmastruktur der Desmidiale <i>Netrium digitus</i> und über einige Zellinhaltskörper dieser Alge . . . . .	XXXI	607
Kratky, O., M. Ratzenhofer und E. Schauenstein: Beiträge zur Frage der Kollagendifferenzierung . . . . .	XXXIX	684
Küster, E.: Über die Lagerung der Chromoplasten (Beobach- tungen an pflanzlichen Haaren) . . . . .	XXXIX	282

Titel der Arbeit	Band	Seite
Kwiatkowsky, G.: <i>Mesogerron</i> als zellphysiologisches Objekt . . . . .	XXXIX	289
Lanz, I.: Beiträge zur Plasmamorphologie der Rotalgen . .	XXXIV	155
— Über Degenerationerscheinungen an Aggregatamyloplasten . . . . .	XXXVI	619
Legler, F., und H. Schindler: Zentrifugierungsversuche an Diatomeenzellen . . . . .	XXXIII	469
Lepeschkin, W. W.: Über den Einfluß des Wasserverlustes des Protoplasmas auf seine Permeabilität für gelöste Stoffe . . . . .	XXXII	140
Lieballdt, E.: Die Silberreduktion der Chloroplasten unter einem neuen Gesichtspunkt . . . . .	XXXI	267
Mairold, F., und F. Weber: Notiz über <i>Cephalantera Albinos</i> . . . . .	XXXIX	275
Meyer, P.: Natürliche Vitalfärbung bei <i>Hydra attenuata</i> . .	XXXIX	434
Pfeiffer, H. H.: Protoplasmatisches vom Züricher Kongreß für experimentelle Zellforschung . . . . .	XXXI	603
— Vervollkommenung der rheologischen Versuchseinrichtung für Protoplasmatropfen . . . . .	XXXIII	311
— Beugungspolarisatorische Messungen an isotonisch und an isometrisch kontrahierten Insektenmuskeln . . . . .	XXXVI	444
— Polarisationsmikroskopische Messungen an Eiweißspindeln aus Pflanzenzellen . . . . .	XXXVI	616
— Polarisationsmikroskopische Messungen an Mikrosporenmutterzellen von <i>Tradescantia paludosa</i> . . . . .	XXXIX	277
Pietsch, A.: Notiz über eine Modifikation der Weberschen Tüpfelreaktionsmethode zum Nachweis von Vitamin C in Pflanzen . . . . .	XXXVI	149
Pirson, A., und F. Alberts: Über die Assimilation von <i>Helodea</i> -Blättern nach Vitalfärbung mit Rhodamin B . .	XXXV	131
Reuter, L.: Der Stärkegehalt der Schließzellen von <i>Zea-Albinos</i> . . . . .	XXXI	147
Savelli, R., e C. Caruso: Sulla frequenza delle sterine nelle secrezioni del chlorenchima . . . . .	XXXI	273
— — Intorno ad un preteso incluso citoplasmatico ceroso . .	XXXI	298
— — Sur la nature de certaines reactions du noyau au liquide de Giroud . . . . .	XXXIV	484
Schopfer, W. H.: Observations sur un pigment de membrane chez <i>Phycomyces</i> . . . . .	XXXIV	609
Schorr, L.: Über bunte Vakuolensysteme . . . . .	XXXI	292
Toth, A., G. Graf und G. Richter: „Plasmaamöben“ in geschleudelter <i>Spirogyra</i> . . . . .	XXXVII	300
— Mikurgische und mikrochemische Untersuchung der festen Anthozyankörper im Blütenblatt von <i>Pelargonium zonale</i> . . . . .	XL	187
Weber, F.: Notizen über den <i>Drosera</i> -Tentakel-Schleim . .	XXXI	289
— Zur Doppelbrechung des Cyanophyceen-Chromatoplasmas . . . . .	XXXII	142
— Anthocyanophorenfreie <i>Erythraea</i> -Blütenzellen . . . . .	XXXIII	473

Titel der Arbeit	Band	Seite
Weber, F.: Tüpfel-Reaktionen zur Orientierung über den Vitamin-C-Gehalt von Pflanzen . . . . .	XXXIII	474
— Eiweißspindeln von <i>Valerianella</i> . . . . .	XXXIV	148
— Vitamin-C-Gehalt ergrünter Rhizom-Knollen von <i>Stachys</i>	XXXIV	153
— Vitamin-C-Gehalt durch niedere Temperatur am Ergrünen veränderter Keimlinge . . . . .	XXXIV	314
— Frühtreiben und Vitamin-C-Gehalt . . . . .	XXXIV	317
— Vitamin-C-Gehalt von Albinos und panaschierten Pflanzen	XXXV	136
— Kurzzellen — Schließzellen von <i>Iris japonica</i> . . . . .	XXXV	140
— Vitamin-C-Gehalt der Myrmekochoren-Caruncula . . . . .	XXXVI	147
— Vitamin C im Nektar von <i>Fritillaria imperialis</i> . . . . .	XXXVI	613
— Spaltöffnungsapparat-Anomalien colchiciniertes <i>Tradescantia</i> -Blätter . . . . .	XXXVII	556
— Vitamin-C-Gehalt des <i>Jeffersonia</i> -Arillus und der Belt-schen Körperchen . . . . .	XXXVIII	314
— Vitamin-C-Gehalt des <i>Sauromatum</i> -Spadix . . . . .	XXXIX	113



Druck von Adolf Holzhausens Nachfolger, Wien VII.

Fortsetzung von der II. Umschlagseite

	Seite
Kuhl, Willi (unter Mitarbeit von Gertrud Kuhl). Mikrodynamische Untersuchungen an der lebenden Zelle von <i>Actinosphaerium eichhorni</i> Ehrbg. unter Änderung des Zeitmomentes (Zeitrafferlaufbild- und Teilbildanalyse).....	555
Keller, R. and S. S. Wanderman. Experiments with Distant Effects of Protoplasm	614
Stadelmann, Eduard. Eine verbesserte Durchströmungskammer .....	617
Kenda, Griseldis, Irmtraud Thaler und Friedl Weber. Kern-Kristalloide in Stomata-Zellen? .....	624

Kurze Mitteilungen

Brat, Lia, Griseldis Kenda und Friedl Weber. Rhabdoide fehlen den Schließzellen von <i>Drosera</i> .....	633
Weber, Friedl. Viruskörper fehlen den Stomazellen .....	635
Thielke, Charlotte. Sekundäre Membranverwachsungen im Bereich der Spaltöffnungen am Blütenstengel von <i>Narcissus poeticus</i> L. ....	639

<u>Referate</u> .....	645
-----------------------	-----

Bei der Schriftleitung sind folgende weitere Arbeiten eingelangt

Härtel, Otto. Färbungsstudien an der pflanzlichen Kutikula .....	29. 1. 1951
Ziegenspeck, Hermann und Hugo Ziegenspeck. Über den Aufbau der Wandungen von <i>Cladophora glomerata</i> im Lichte der verfeinerten Methoden der Lichtmikroskopie .....	10. 4. 1951
Schwöbel, Wilhelm. Untersuchungen zur Granulabewegung im Ei von <i>Parascaris equorum</i> (Goeze) mit Hilfe des Zeitrafferfilms .....	15. 5. 1951
Cholnoky, B. J. Beobachtungen über die Wirkung der Kalilauge auf das Protoplasma .....	2. 7. 1951
Kenda, Griseldis, Irmtraud Thaler und Friedl Weber. Sphärit-Bildung aus <i>Cirsium</i> -Zellsaft .....	10. 7. 1951
Höfler, Karl und Lulise Höfler. Osmoseverhalten und Nekroseformen von <i>Euglena</i> .....	11. 7. 1951
Toth, Annemarie. Neutralrotfärbung im Fluoreszenzlicht .....	17. 7. 1951
Weber, Friedl und Griseldis Kenda. Cactaceen-Virus-Eiweißspindeln .....	30. 9. 1951
Metzner, Helmut. Die Reduktion wäßriger Silbernitratlösungen durch Chloroplasten und andere Zellbestandteile .....	8. 10. 1951
Boerner, Dora. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an Lipoiden .....	25. 10. 1951
Bauer, Leopold. Über den Wasserhaushalt der Submersen. 1. Zur Frage der Saugkräfte der Submersen .....	19. 12. 1951
Arnold, A. Über den Funktionsmechanismus der Endodermiszellen der Wurzeln .....	27. 12. 1951

*Soeben erschienen:*

## **Die Zellteilung als Plasmateilung**

Von Prof. Dr. Anton Mühldorf, Wien

Mit 79 Textabbildungen. VIII, 194 Seiten. 1951

S 98.—, DM 19.70, \$ 4.70, sfr. 20.20

Die Entdeckung der Zellteilung kann als die Geburtsstunde der Zytologie und in gewissem Sinne auch der modernen Biologie betrachtet werden. Die Frage der eigentlichen Zellteilung im Sinne des heutigen Begriffes der Plasmateilung trat allerdings in den Hintergrund, als man die Bedeutung der selbständigen Teilung des Zellkernes erkannte. Gesondert für sich ist die Zellteilung als Plasmateilung bis heute überhaupt noch nicht behandelt worden. Trotzdem stellt die Plasmateilung — auch im Hinblick auf die Erscheinungen der plasmatischen Vererbung — einen wichtigen Schritt im Leben von Pflanze und Tier dar. Das genannte, soeben erschienene Werk faßt zum ersten Male den gesamten Fragenkomplex der Zellteilung als Plasmateilung im Pflanzen- und Tierreich nach dem letzten Stande der Forschung zusammen.

*Soeben erschienen:*

## **Pflanzensoziologie**

### **Grundzüge der Vegetationskunde**

Von Prof. Dr. J. Braun-Blanquet

Leiter der Station Internationale de Géobotanique Méditerranéenne et Alpine, Montpellier

Zweite, umgearbeitete und stark vermehrte Auflage

Mit 350 Textabbildungen. XI, 631 Seiten. 1951.

S 315.—, DM 63.—, \$ 15.—, sfr. 64.50

Geb. S 330.—, DM 67.20, \$ 16.—, sfr. 68.80

Seit dem Erscheinen der längst vergriffenen ersten Auflage dieses Buches vor 23 Jahren ist die Pflanzensoziologie zu einem selbständigen Wissenschaftszweig geworden, dessen Bedeutung auch für zahlreiche praktische Belange, wie Naturschutz, Wiesen-, Weide-, Moor-, Forst-, Wasserwirtschaft, Bodenbearbeitung usw., heute außer Frage steht. Die Pflanzensoziologie untersucht die Beziehung der Pflanzenverbände zu Klima, Boden und Wirtschaft. Sie gestattet Voraussagen auf weite Sicht und lehrt die Fehler jahrtausendealter menschlicher Raubwirtschaft erkennen, heilen und auch vermeiden. Der Verfasser, langjähriger Leiter der „Station Internationale de Géobotanique Méditerranéenne et Alpine“ in Montpellier und schon zur Zeit der ersten Auflage ein Pflanzengeograph und Systematiker von Ruf, hat an der Entwicklung dieses Forschungszweiges einen hervorragenden Anteil. Viele seiner Ideen sind Allgemeingut geworden. Er ist daher wie kein zweiter berufen, eine moderne Darstellung des Gesamtgebietes der Pflanzensoziologie zu geben. Diese liegt nunmehr in Form einer wesentlich umgearbeiteten und vermehrten Auflage seines Werkes vor.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung

